Univerzita Karlova v Praze

3. lékařská fakulta

Disertační práce

Praha, 2016 **MUDr. Michaela Lipski**

Univerzita Karlova v Praze

3. lékařská fakulta

Disertační práce

Animální modely psychóz - hodnocení EEG a hladin monoaminů v CNS u potkana

Animal models of psychosis – the assesment of EEG and the levels of monoamines in the CNS of the rat

Školitel: Prof. MUDr. Jiří Horáček, Ph.D.

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem řádně uvedla a citovala všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze dne 31.8. 2016

Michaela Lipski

Identifikační záznam:

LIPSKI, Michaela. *Animální modely psychóz - hodnocení změn v kvantitativním EEG a v hladinách monoaminů v centrálním nervovém systému u potkana [Animal models of psychosis - analysis of quantitative EEG and monoamine levels in the central nervous system of the rat]*. Praha, 2016. Počet stran 114, počet příloh 4. Disertační práce. Univerzita Karlova v Praze, 3. lékařská fakulta, Národní ústav duševního zdraví. Školitel prof. MUDr. Horáček, Jiří PhD

Klíčová slova: schizofrenie, animální modely, EEG, biochemie

Key words: schizophrenia, animal models, EEG, biochemistry

Poděkování:

Mé poděkování patří všem, kteří se spolupodíleli na vytvoření této disertační práce. V první řadě děkuji prof. MUDr. Jiřímu Horáčkovi, Ph.D., mému školiteli, za cenné rady a odborné vedení po celou dobu mého doktorandského studia. Dále děkuji kolegům z Laboratoře biochemie a patofyziologie mozku, kde podstatná část této disertační práce vznikla, zejména RNDr. Daniele Řípové, CSc., bývalé vedoucí laboratoře (do konce roku 2015), za vytvoření vhodných pracovních podmínek. Mé vřelé poděkování patří hlavně MUDr. Tomášovi Páleníčkovi, Ph.D., za vynikající vedení, za trpělivé uvedení do principů EEG/statistiky/behaviorálních experimentů a celkově do vědecké práce. Tato disertační práce by nevznikla bez všestranné a láskyplné podpory mého manžela. Děkuji taktéž mým dvěma dětem - Adriánkovi (3,5 roku) a Ariance (20 m), za to, že mi dávají energii a smysl života a že mě nechávají přes noc spát (občas ☺).

OBSAH

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK 9
SOUHRN 12
SUMMARY 13
ÚVOD A FORMULACE CÍLŮ PRÁCE 14
1. OBECNÁ ČÁST 15
1.1 Etiologie a psychopatologie schizofrenie 15
1.2 Strukturální abnormality mozku u SCHZ 16
1.3 Změny v neurotrasmiterových a neuromodulačních systémech 17
1.4 Neuronální sítě podílející se na SCHZ 24
1.5 Elektroencefalografie 26
1.6 EEG nálezy u schizofrenie 28
1.6.1 Aktivita alfa pásma u SCHZ 28
1.6.2 Aktivita beta pásma u SCHZ 29
1.6.3 Nízko-frekvenční pásmová aktivita - delta a theta u SCHZ 30
1.6.4 Aktivita gamma pásma u SCHZ 32
1.6.5 Koherence u SCHZ 35
2. Animální modely schizofrenie a jejich elektrofyziologické koreláty 36
2.1 Farmakologické animální modely 37
2.1.1. Glutamátergní a GABAergní model 37
2.1.2. Serotonergní model 39
2.1.3. Dopaminergní model 40
2.2 Neurovývojové modely 41
2.2.1 Maternální imunitní aktivace (MIA) 42
2.2.2 Neonatální léze ventrálního hipokampu (NLVH) 42
2.2.3 Neonatalní expozice metylazoxymetanol acetátu (MAM) 43
2.3 Genetické modely 44
3. Shrnutí obecné části a stanovení cílů práce 44
SPECIÁLNÍ ČÁST 47
4. Dílčí cíle a hypotézy prezentovaných publikací 48
5. Metodika studií 50
5.1 Látky 50
5.2 Behaviorální pokusy 51

5.2.1 Lokomoční aktivita v testu otevřeného pole 51
5.2.2 Akustická úleková reakce (ASR) a prepulsní inhibice akustické úlekové reakce (PPI ASR) 52
5.3 EEG experiment 53
5.3.1 Implantace elektrod 53
5.3.2 Nahrávání EEG 54
5.3.3 Analýza EEG signálu 55
5.4 Mikrodialyzační experiment (pouze serotonergní model) 56
5.4.1 Implantace elektrod 56
5.4.2 Sběr vzorků a analýza 56
5.5 Farmakokinetika (pouze glutamátergní model) 56
6. Statistika 57
6.1 Behaviorální pokusy a farmakokinetika 57
6.2 EEG experiment 57
6.3 Mikrodialýza 58
7. Výsledky studie 58
7.1 Lokomoční aktivita v testu otevřeného pole 58
7.1.1 Serotonergní model s 2C-B 58
7.1.1.1 Celková lokomoce 58
7.1.1.2 Analýza 5 minutových intervalů – aplikace 2C-B 15 min před začátkem pokusu 59
7.1.1.3 Analýza 5 minutových intervalů – aplikace 2C-B 60 min před začátkem pokusu 60
7.1.1.4 Thigmotaxe (i) a čas strávený v centru arény (Tcentre) 61
7.1.2 Glutamátergní model s ketaminem 61
7.1.2.1 Celková lokomoce 61
7.1.2.2 Analýza 5 minutových intervalů 62
7.1.2.3 Thigmotaxe (i) a čas strávený v centru arény (Tcentre) 63
7.1.3 Dopaminergní model s amfetaminem 64
7.1.3.1 Celková lokomoce 64
7.2 Akustická úleková reakce (ASR) a prepulsní inhibice akustické úlekové reakce (PPI ASR) 64
7.2.1 Serotonergní model s 2C-B 64
7.2.2 Glutamátergní model s ketaminem 65

7.2.3 Dopaminergní model s amfetaminem 66
7.3 EEG experiment 66
7.3.1 EEG spektra 66
7.3.1.1 Aplikace fyziologického roztoku 66
7.3.1.2 Serotonergní model s 2C-B 68
7.3.1.3 Glutamátergní model s ketaminem 69
7.3.1.3. A. Úseky odpovídající behaviorální inaktivitě 69
7.3.1.3. B. Úseky odpovídající behaviorální aktivitě 72
7.3.1.4 Dopaminergní model s amfetaminem 73
7.3.2 EEG koherence 74
7.3.1.1 Kontroly s aplikací fyz. roztoku 74
7.3.1.2 Serotonergní model s 2C-B 74
7.3.1.3 Glutamátergní model s ketaminem 76
7.3.1.3. A. Úseky odpovídající behaviorální inaktivitě 78
7.3.1.3. B. Úseky odpovídající behaviorální aktivitě 79
7.3.1.4 Dopaminergní model s amfetaminem 80
7.4 Mikrodialyzační experiment (pouze serotonergní model) 81
7.5 Farmakokinetika 81
8. Diskuze k výsledkům a zhodnocení cílů práce 82
8.1 Behaviorální experimenty, farmakokinetika a mikrodialýza. 82
8.2 EEG data 83
8.2.1 Serotonergní model –výkonové spektrum 83
8.2.2 Serotonergní model psychózy –EEG koherence 84
8.2.3 Glutamátergní model - výkonové spektrum 84
8.2.4 Glutamátergní model – EEG koherence 86
8.2.5 Dopaminergní model psychózy – výkonové spektrum a koherence 87
8.2.6 Aplikace fyziologického roztoku – výkonové spektrum a koherence 87
9. Závěr 87
10. Seznam publikací doktoranda 89
11. Použitá literatura 91

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

2C-B	4-Bromo-2,5-dimetoxyfenyletylamin
5-HIAA	5-Hydroxyindoleacetic acid; kyselina 5-hydroxyindoloctová
5-HT	5-Hydroxytryptamin; serotonin/serotoninový receptor
ACC	anterior cingulate cortex, přední cingulární kůra
ACh	acetylcholin
ACSF	artificial cerbreospinal fluid, umělá cerebrospinální tekutina
ANOVA	Analysis of variance; analýza rozptylu
ASR	Acoustic strartle reaction; akustická úleková reakce
BOLD	Blood-oxygen-level dependent
C	Centrální elektroda
CA	Cornu Ammonis; Amonův roh
CB1	cannabinoid receptor 1, kanabinoidní receptor 1
CNS	Centrální nervový systém
D	Dopaminový receptor
dlPFC	dorsolaterální prefrontální kortex
DA	Dopamin
DISC-1	Disrupted-in-schizophrenia 1
DOB	4-Bromo-2,5-dimetoxyamfetamin
DOPAC	3,4-Dihydroxyphenylacetic acid; dihydroxyfenyloctová kyselina
DTI	difuse tensor imaging, analýza tensorů difuze
DTNBP1	Dystobrevin-binding protein 1; dysbindin
EEG	Electroencephalography; elektroencefalografie

F	Frontální elektroda
FEP	first episode psychosis, první episoda psychózy
FFT	fast Fourier transformation, rychlá Fourierova transformace
fMRI	functional magnetic resonance imaging, funkční magnetická resonance
GABA	γ-Aminobutyric acid; kyselina γ-aminomáselná
GAD67	glutamic acid decarboxylase 67, dekarboxyláza glutamové kyseliny 67
GAT1	GABA transporter 1
GLU	Glutamát
HVA	Homovanilic acid; kyselina homovanilová
IPSP	inhibiční postsynaptický potenciál
LC-MS	Liquid chromatography–mass spectrometry; kapalinová chromatografie-hmotnostní spektrometrie
LSD	Lysergic acid diethylamide; dietylamid kyseliny lysergové
MAM	Methylazoxymethanol acetate; metylazoxymetanol acetát
MAO	Monoaminooxidáza
MDMA	3,4-Metylendioxy-N-metylamfetamin; Extáze
MIA	Maternální imunitní aktivace
MRI	Magnetic resonance imaging; magnetická rezonance
mRNA	Messenger ribonucleic acid; mediátorová ribonukleová kyselina
NAc	Nucleus accumbens
NaCl	Natrium chloratum; chlorid sodný
NE	norepinefrin, noradrenalin
NLVH	Neonatální léze ventrálního hipokampu

NMDA	N-methyl-D-aspartic acid; N-metyl-D-aspartát
NR2A	podjednotka NMDA receptoru
P	Parietální elektroda
PCP	phencyclidine, fencyklidin
PET	Pozitronová emisní tomografie
PND	postnatální den
PPI	Prepulse inhibition; prepulzní inhibice
PV	parvalbumin
qEEG	Quantitative electroencephalography; kvantitativní elektroencefalografie
RM	Repeated measures; opakovaná měření
SEM	Standard error of the mean; standardní chyba průměru
SCHZ	Schizofrenie
T	Temporální elektroda
THC	delta-9 tetrahydrokanabinol
UK	Univerzita Karlova

SOUHRN

Předkládaná disertační práce se zabývá animálními modely psychózy a zahrnuje biochemické, behaviorální a elektroencefalografické (EEG) nálezy. Obecná část je věnována nejprve popisu přenašečových a EEG změn u pacientů se schizofrenií (SCHZ) a následně pokračuje základním rozdělením animálních modelů SCHZ a popisem EEG změn v těchto modelech. Ve speciální části jsou prezentovány výsledky 3 studií, které se zabývají behaviorálními a EEG odchylkami ve farmakologických modelech psychózy. Ve studii od Páleníček et al, 2013 jsme se věnovali farmakologickým modelem psychózy navozeným aplikací syntetické drogy 4-bromo-2,5-dimetoxyfenyletylaminu (2C-B), která se váže v mozku s vysokou afinitou k serotoninovým (5-hydroxytryptofan, 5-HT) receptorům. Aplikací 2C-B potkanům jsme indukovali deficit prepulzní inhibice akustické úlekové reakce a navodili časově a dávkově bifázickou změnu lokomoce, kdy hypolokomoce byla následována hyperlokomocí. Nízké dávky 2C-B snižovaly v EEG experimentech výkon i koherence, vysoké dávky měly dočasný bifázický efekt s počátečním poklesem následovaným zvýšením výkonu. Popisovaný bifázický účinek byl pozorovaný i u EEG koherencí. Pomocí mikrodialýzy jsme v nucleus accumbens dále prokázali zvýšení hladin dopaminu a jeho metabolitů kyseliny homovanilové a 3-metoxytyraminu a naopak snížení hladiny kyseliny 3,4-dihydroxyfenyloctové. Zvýšení EEG výkonu a koherencí bylo po aplikaci 2C-B časově spojeno se zvýšením lokomoční aktivity a dopaminových hladin v nucleus accumbens. Ve druhé prezentované studii (Páleníček et al, 2011) jsme se zabývali farmakokinetikou ketaminu v mozkové tkáni potkana, behaviorálními a EEG charakteristikami po jednorázové aplikaci ketaminu ve dvou dávkách. Podání ketaminu ve vyšší dávce vedlo k výrazné hyperlokomoci a k deficitu prepulzní inhibice akustické úlekové reakce. Naše studie prokázala na dávce závislé změny v parametrech EEG, kde nižší dávka vedla ke zvýšení EEG spektrálního výkonu v pásmech delta a gamma, kdežto vyšší dávka navíc indukovala zvýšení EEG spekter v pásmech theta až beta. Akutní podání ketaminu dále zvyšovalo EEG koherence v celém spektru, přičemž vyšší dávka indukovala mohutnější nálezy. Ve třetí studii (Fujakova et al, 2014) jsme studovali potenciální antipsychotický účinek agonisty metabotropního 2/3 glutamátového (mGlu2/3) receptoru v animálním modelu psychózy podáním ketaminu. Agonista mGlu2/3 receptoru snížil ketaminem navozenou hyperlokomoci, ale neměl účinek na prepulsní inhibici úlekové reakce. EEG analýza klidových behaviorálních úseků odhalila zvýšení ve vysokofrekvenčních a snížení v nízkofrekvenčních pásmech. Dále tato analýza ukázala snížené EEG koherence, které však byli částečně normalizované mGlu2/3 agonistou.

SUMMARY

The present work describes animal models of psychosis with the aim on monoamine levels and behavioral/EEG findings. The general part is focused on reporting biochemical and EEG findings in patients with schizophrenia, followed by animal models of schizophrenia and their EEG findings. In the special part, results of behavioral and EEG parameters in three animal models of psychosis are presented. A study by Palenicek et al, 2013 described serotoninergic animal model and showed that 4-bromo-2,5-dimetoxyfenyletylaminu (2C-B) induced deficit in prepulse inhibition of startle reaction and produced dose related biphasic changes in the locomotion (i.e. hypolocomotion was followed by the hyperlocomotion). Low doses of 2C-B decreased EEG power and coherence, while high doses had a temporary biphasic effect with an initial decline followed by an increase in power – a similar effect was also observed in the coherence. In microdialysis study, increased levels of dopamine and its metabolites homovanilic acid and 3-methoxytyramine and decreased levels of 3,4-dihydroxyphenylacetic acid in the nucleus accumbens are described. The increase in the EEG power and coherence after the 2C-B application was associated with an increase in locomotion and congruently with elevated dopamine levels in the nucleus accumbens. Study by Palenicek et al, 2011 focused on pharmacokinetics of ketamine in rat brain tissue/sera and behavioral and EEG characteristics after a single injection of ketamine. The administration of ketamine led to a pronounced hyperlocomotion and to a deficit in prepulse inhibition of startle reaction. Our study proved dose-dependent changes in EEG parameters, where the lower dose induced robust and dose- and time-dependent increases in absolute EEG power in the delta and gamma bands, while the higher dose induced an increase in theta-to-beta power. Acute ketamine injection increased EEG coherence throughout the whole spectrum mostly pronounced after administration of the higher dose. Study by Fujakova et al, 2014 aimed on assessing the potential antipsychotic effect of agonist of metabotropic 2/3 glutamate receptor in ketamine animal model of psychosis. The mGlu2/3 agonist decreased ketamin-inuced hyperlocomotion, but had no effect on prepulse inhibition of startle reaction. EEG analysis of epochs with behavioral inactivity revealed an increase in high frequency bands and a decrease in low-frequency bands. Further, such analysis showed a decrease in EEG coherence. All these alterations were partially normalized by mGlu2/3 agonist.

ÚVOD A FORMULACE CÍLŮ PRÁCE

Psychóza je definovaná jako stav, kdy člověk ztrácí kontakt s realitou, kterou jinak vnímá (halucinace) a hodnotí (bludy), a která ovlivňuje jeho chování. SCHZ se obvykle projevuje psychózou. Dle Diagnostického a statistického manuálu mentálních poruch - 5 patří mezi hlavní diferenciální diagnostiku psychóz afektivní psychózy (depresivní či mánická fáze s psychotickými příznaky v rámci periodické depresivní poruchy nebo bipolární afektivní poruchy), ostatní ne-afektivní psychózy (schizoafektivní porucha, porucha s bludy atd), psychózy způsobené užíváním psychoaktivních látek, alkoholu a psychózy způsobené jiným fyzickým onemocněním. V předkládané práci se budu zabývat pouze psychózou v rámci SCHZ. Člověk postižený psychózou má poruchy vnímání a myšlení, jeho chování, jednání a prožívání není v souladu s vnějšími okolnostmi. Svým bludům bezmezně věří (tj. chybí mu náhled). Diagnóza SCHZ je - zjednodušeně řečeno - stanovena pokud poruchy myšlení a vnímaní trvají nejméně jeden měsíc. Následný průběh SCHZ je u každého člověka jiný. Po první atace a následné léčbě může dojít k úplné rekonvascelenci. Pro SCHZ jsou však charakteristické opakované ataky, kdy většinou dochází k výraznému kognitivnímu úpadku a emoční oploštělosti.

SCHZ je závažné onemocnění s nejasnou etiopatogenezí. SCHZ onemocní cca 1% populace a je rovnoměrně zastoupena u obou pohlaví. U mužů většinou nastupuje dříve (mezi 15-25 rokem života), u žen může nastupovat trochu později (tj. mezi 25-35 rokem života). Z dostupných poznatků se předpokládá, že na vzniku onemocnění se podílí genetické faktory a faktory prostředí (Owen et al, 2016). V poslední době se však stále více výzkumu soustředí na neurozobrazovací metody, kde mnoho studií naznačuje dysfunkční propojení kortiko-striato-thalamických drah, které jsou důležité pro vznik psychóz (např. review Sheffield a Barch 2016; review Schmidt et al, 2015). Z hlediska povrchového snímání elektrické aktivity mozku se psychotický stav projevuje abnormálním fronto-temporálním/parietálním spojením (Schmidt et al, 2015). Nedávný klinický i preklinický výzkum s látkami ovlivňujícími glutamátergní nebo serotonergní systém ukázal schopnost narušit přenos interních a externích informací z thalamu do kortexu a tudíž se tyto modely staly vhodnými pro studium psychózy. Otázkou zůstává do jaké míry tyto látky ovlivňující 5-HT a NMDA receptor dokážou navodit diskonekci fronto-temporální a do jaké míry je mezi nimi rozdíl v chování a jiných parametrech EEG (např. ve spektrálním výkonu) a jestli má toto chování vliv na EEG.

Z výše uvedených důvodů jsem si za téma své disertační práce zvolila „Animální modely psychóz - hodnocení EEG a hladin monoaminů v CNS u potkana“. V průběhu studia

jsem se zaměřila zejména na farmakologické animální modely SCHZ. Tematicky je disertační práce rozdělena na *obecnou část*, kde popisuji biochemické a EEG změny u SCHZ a v animálních modelech psychóz a na *speciální část*, kde jsou prezentovány naše společné publikace týkající se tématu disertační práce. Předkládaná disertační práce je souborem tří původních vědeckých prací (Páleníček et al, 2011; Palenicek et al, 2013; Fujáková et al. 2014). Dál se k problematice SCHZ váže rovněž i náš přehledový článek o ketaminu (Fujáková et al, 2010). Prezentované publikace shrnují výsledky práce zabývající se hladinami neuromodulátorů a EEG nálezy u serotonergního a glutamátergního modelu SCHZ.

1. OBECNÁ ČÁST

1.1 Etiologie a psychopatologie schizofrenie

SCHZ je heterogenní onemocnění charakterizované na základě *pozitivních* (ozvučování, vkládání a odnímání myšlenek, halucinace, bludy, dezorganizace řeči a chování, poruchy motoriky), *negativních* (afektivní oploštění, alogie, apatie, anhedonie, sociální stažení) a *kognitivních* symptomů (poruchy paměti, pozornosti a exekutivních funkcí) (Mesholam-Gately et al, 2009). Zatímco pozitivní symptomy jsou relativně dobře ovlivnitelné léčbou antipsychotiky, negativní a zejména kognitivní symptomy jsou u SCHZ málo ovlivnitelné avšak významné v každodenním fungování. Z tohoto důvodu se výzkum zaměřuje zejména na kognitivní zhoršení, které je nejlepší prediktor celkového fungování pacienta (Harvey a Bowie 2012a) a účinná prokognitivní léčba je zatím neznámá (Owen 2016). Vzhledem k tomu, že antipsychotika jen minimálně zlepšují kognici (Hill et al., 2011) se v poslední době dostává do popředí kognitivní remediace (van der Gaag et al, 2002). U této metody jsou však výsledky variabilní, většinou vztahující se k délce onemocnění (Harvey a Bowie 2012b).

Etiologie SCHZ je neznámá, předpokládá se genetický podklad a působení faktorů prostředí, které se podílejí u predisponovaných jedinců na vzniku onemocnění. Jiné etiologické studie se zaměřují na imunitní a zánětlivé abnormality, kde expozice plodu zánětlivým cytokinům je asociována se zvýšeným rizikem SCHZ (Brown a Derkits, 2010). V poslední době však přibývá důkazů, že SCHZ je výsledkem abnormálního nervového vývoje, který znemožňuje formovat správné nervové spoje. S tím souvisí i narušená oscilační aktivita neuronů pozorovaná u SCHZ, která je základem informačního zpracování a slouží pro správné vnímání okolního světa, paměťové funkce a kontrolu nálad (Basar et al, 2013; Basar a Güntekin, 2013; Basar, 2013; Uhlhaas a Singer, 2010).

1.2 Strukturální abnormality mozku u SCHZ

Dlouhodobé trvání schizofrenního onemocnění má vliv na strukturu a funkci mozku. Strukturální změny v mozku SCHZ pacientů jsou dobře zdokumentovány a zahrnují zvětšený objem postranních komor (Vita et al, 2006) a úbytek šedé mozkové kůry zejména v oblastech frontálních a levé temporální oblasti (Shenton et al, 2001). Snížený objem kortexu v levé temporální oblasti je spojován se horší prognózou SCHZ než úbytek frontální (Mitelman et al, 2003) a je typický pro pacienty s chronickou formou SCHZ (Williams et al, 2008). Snížený objem ve frontálním laloku byl pozorován u první epizody SCHZ (first episode psychosis, FEP) (Williams 2008). Dále je u SCHZ popisována redukce kortikálního objemu v oblasti limbické a poté zejména v hipokampu (Shepherd et al, 2012; Adriano et al, 2012). Kromě objemových změn se u SCHZ popisují i změny gyrifikace (ve smyslu zvýšení i snížení) (přehledně White a Hilgetag 2011). Vzhledem k tomu, že tvorba závitů probíhá v prenatálním období a poté zůstává neměnná, mohou změny gyrifikace sloužit jako potencionální marker časného vývoje a nahrávat neurovývojové hypotéze SCHZ (White et al, 2010).

Funkční zobrazovací studie poukazují na sníženou hemodynamickou odpověď v dorsolaterálním prefrontálním kortexu (dlPFC) u SCHZ pacientů během zpracování informací (tzv. hypofrontalita) (Weinberger et al, 1986; Driesen et al, 2008). Tento nález je důležitý zejména proto, že pracovní pamět a proces rozhodování jsou spojovány s aktivací dlPFC a tudíž jeho snížená hemodynamická odpověd potvrzuje zhoršené kognitivní funkce u SCHZ. Jiná meta-analýza funkčních zobrazovacích metod u SCHZ ukázala na asociaci zhoršené pracovní paměti i se strukturami temporo-limbickými (např. předním cingulem, levou frontální oblastí) (Glahn et al, 2005). Dále zobrazovací metody poodhalily abnormality v aktivaci široce rozšířených mozkových sítí během klidu i během zpracování úkolů a to v souvislosti s tíží onemocnění (Barch a Ceaser 2012; Uhlhaas a Singer 2012).

Metoda zobrazení tenzorů difuze (diffusion tensor imaging, DTI) je relativně nová metoda umožňující zobrazení kvality a dalších charakterstik bílé hmoty mozku a míchy. Analýza DTI je ve výzkumu relativně často používaná technika, která nám umožňuje zhodnotit patologii bílé hmoty mozkové a nahlédnout do narušených strukturálních změn např. ve fronto-limbických oblastech. V rámci DTI vyšetření se hodnotí tzv. frakční anizotropie, která využívá efektu anizotropie difuze v bílé hmotě, kde je difuze omezena membránami nervových vlákem a je tedy silnější ve směru probíhajících vláken. Měření difuze se provádí zobrazením magnetickou resonancí (magnetic resonance imaging, MRI) a její směr je matematicky určen pomocí difuzních tenzorů. Meta-analýza DTI studií ukázala u pacientů s chronickou formou SCHZ redukci ve frakční anisotropii v levém prefrontálním a

temporálním kortexu (Ellison-Wright a Bullmore, 2009). Autoři meta-analýzy předpokládají, že popsané snížení integrity bílé hmoty ve zmíněných oblastech může způsobovat nedostatečnou propojenost šedé kůry a vést ke kognitivnímu deficitu a jiným symptomům SCHZ. Redukce integrity bílé hmoty v pravém frontálním a levém temporálním laloku byly opakovaně zjištěny i u FEP (Yao et al, 2014; Melicher et al, 2015). V této studii se navíc ukázala i snížená integrita ve svazcích inter-hemisferálních vláknech kalózního tělesa a tudíž by tento nález mohl podporovat diskonenční hypotézu SCHZ, o které bude zmínka v pozdějším textu.

V rámci patofyziologie SCHZ je třeba brát v úvahu nejenom zobrazovací anatomické a post-mortem studie, které nám dávají důležité informace o morfologických změnách mozku, ale i abnormality v nervových okruzích. Ty zahrnují elektrochemické aktivity jednotlivých neuronů a interakce všech synaptických potenciálů, které poskytují celkový obraz SCHZ onemocnění. Další části práce budou tudíž zaměřeny na neurochemické a elektrofyziologické změny.

1.3 Změny v neurotrasmiterových a neuromodulačních systémech

V neurofyziologii se ligand považuje za látku, která účinkuje tím, že se naváže na vazebná místa receptorů. Zatímco za pravé neurotransmitery jsou chápany pouze excitační a inhibiční přenašeče (glutamát, aspartát a GABA), neuromodulátory modulují funkci receptoru v centrálním nervovém systému (CNS) na dobu delší než je zlomek sekundy po kterou trvá přenos vzruchu. Za modulátory jsou tudíž v neurovědách považovány dopamin, 5-HT, noradrenalin a acetylcholin. Hypotézy SCHZ založené čistě na změnách neurotransmise/neuromodulace se již v dnešní době považují za zastaralé. ***Dopaminová hypotéza*** je založena na schopnosti dopaminových (D2/3) blokátorů (tzv. antipsychotik) antagonizovat zvýšenou aktivitu dopaminového systému v mesolimbickém okruhu (vede k pozitivním symptomům) a snižovat dopaminergní signalizaci v mesokortikálním okruhu (vede k negativním symptomům) (Davis et al, 1991). Přímým důkazem pro dopaminergní hyperaktivitu u psychóz jsou i D2 agonisté jako amfetaminy, kteří mohou indukovat paranoidní psychózu u zdravých osob (Angrist et al, 1974) a zhoršovat psychotické symptomy u přibližně 1/3 SCHZ pacientů (Lieberman et al, 1987). Hyperaktivita dopaminového systému byla později potvrzena i v tomografických studiích (jak v jednofotonové emisní počítačové tomografii – SPECT, tak u pozitronové emisní tomografie - PET), kde se prokázalo, že akutní administrace amfetaminu indukuje větší výdej dopaminu ve striatu u FEP než u zdravých kontrol (Laruelle et al, 1996; Breier et al, 1997). Pozdější studie ukázaly zvýšený striatální

výdej jak u FEP, tak během dalších exacerbací onemocnění, avšak ne v období remise (Laruelle et al, 1999). Použitím radiografické tomografie se později lokalizoval zvýšený výdej striatálního dopaminu do rostrálního caudata (Kegeles et al, 2010).

Z postsynaptických markerů nebyla zjištěna žádná výrazná a pro SCHZ typická abnormalita. Meta-analýza 23 studií spíše u SCHZ zdůraznila mírné zvýšení a větší variabilitu v dostupnosti D2 receptorů ve striatu (Howes et al, 2012). V jiných mozkových strukturách se u SCHZ pacientů našlo výrazné snížení výdeje dopaminu v dlPFC, které úzce souviselo se zhoršenou pracovní pamětí (Slifstein et al, 2015). Nebyl však prokazatelně zjištěn rozdíl mezi postsynaptickou dostupností kortikálních D2 receptorů mezi SCHZ pacienty a kontrolami (přehledně Weinstein et al, 2016).

Vzhledem k nedostatečné účinnosti D2 antagonistů v léčbě negativních a kognitivních symptomů byl poznatek o hyperaktivaci D2 receptorů později rozšířen o recipročí hypoaktivaci D1 receptorů v PFC (Davis et al, 1991). D1 receptory patří mezi hlavní efektory dopaminového přenosu v neokortexu a z preklinických a klinických dat vyplývá, že se účastní na udržování informací v krátkodobé paměti (Goldman-Rakic et al, 2000; Sawaguchi et al, 1988). Zvýšené množství a senzitivita D1 receptorů (tzv. D1 up-regulace) v dlPFC přímo korelovala se zhoršenou pracovní pamětí SCHZ pacientů (Abi-Dargham et al, 2002; Abi-Dargham et al, 2012).

Mezi další dopaminové receptory hrající roli v patofyziologii SCHZ patří např. dopaminové D4 receptory a to především s ohledem k jejich vysoké densitě na prefrontálních kortikálních GABAergních interneuronech (Mrzljak et al, 1996) a k míře vazby atypického antipsychotika klozapinu na tyto receptory (Kapur a Remington, 2001). Bylo prokázáno, že aktivace D4 receptorů snižuje glutamátergní přenos na GABAergních interneuronech v PFC (Yuen et al, 2009). Předpokládá se, že společně s D4 receptory indukovaným snížením GABAergní (inhibiční) transmise na pyramidových neuronech PFC (Wang et al, 2002) může tato D4-mediovaná aktivace vést ke zvýšenému excitačnímu výstupu v PFC (Yuen et al, 2009), které se projevuje zhoršeným kognitivním zpracováním.

Z periferních markerů byly u SCHZ zjištěny zvýšené dopaminové metabolity jak v mozkomíšním moku, tak i v plasmě (Kahn et al, 1993). Tyto parametry jsou však rovněž závislé na fázi onemocnění a ovlivněné periferním katecholaminovým metabolismem (Anand et al, 2002).

Role ***glutamátergního systému*** v patofyziologii SCHZ se objevila koncem 50. let při pozorování zdravých dobrovolníků během intoxikace nekompetitivním antagonistou NMDA receptoru (NMDA-R) fencyklidinem (PCP). Požití PCP vedlo k příznakům podobným SCHZ

(Luby et al, 1959). Mnohem později se navíc potvrdilo, že dysfunkce glutamátergního systémemu stojí nejenom za psychotickými projevy, ale že vede i ke kognitivnímu zhoršení u intoxikovaných zdravých dobrovolníků (Javitt a Zukin 1990; Kantrowitz a Javitt 2010). Počátkem 90. let se zjistilo, že i aplikace subanestetické dávky jiného nekompetitivního antagonisty NMDA-R – ketaminu indukovala SCHZ podobné pozitivní a negativní symptomy u zdravých dobrovolníků a zhoršovala psychotické příznaky u SCHZ pacientů (Javitt and Zukin, 1990; Lahti et al, 2001, Krystal et al, 1994). Ketamin tím napodoboval svými účinky SCHZ mnohem lépe než aplikace D2 agonisty amfetaminu (Angrist et al, 1974). Kognitivní zhoršení a psychóza navozená ketaminem byla spojena s hyperaktivitou v PFC (hyperglutamátergním stavem) v MRS (Rowland et al, 2005; Stone et al, 2012), v PET s (18) flurodeoxyglukozou (Breier et al, 1997) nebo v fMRI (Deakin et al, 2008). Dále se potvrdilo, že chroničtí uživatelé PCP nebo ketaminu mají dlouhotrvající SCHZ-podobné symptomy (Jentsch a Roth, 1999), přičemž tato symptomatika může být za SCHZ zaměnována (Abi-Saab et al, 1998). Je zajímavé, že u chronických uživatelů ketaminu se objevují spíše paranoidní bludy a trvalý kognitivní deficit zatímco u chronických uživatelů PCP se nejčastěji vyskytují halucinace (Jentsch a Roth, 1999). Možné vysvětlení klinické odlišnosti mezi NMDA antagonisty v navození např. vizuálních halucinací může souviset např. s větší afinitou PCP k dopaminovým 2 (D2) receptorům (Ki = 2.7 nM) oproti ketaminu s nižší afinitou (Ki = 55 nM) (Seeman a Lasaga, 2005). Je známo, že agonisté dopaminového D2 receptoru mohou zhoršovat nebo navozovat vizuální halucinace, jak to vidíme např. u antiparkinsonik. Mezi další možné vysvětlení visuálních halucinací může být nízká cholinergní aktivitou v rámci např. delirantního stavu. Potkani s navozenou hypofunkcí cholinergního systému vykázali zvýšenou sensitivitu k PCP, která se manifestovala zvýšenou lokomoční aktivitou (tj. markerem positivních příznaků) (Mattsson et al, 2005). Na druhou stranu, mnohem výraznější schopnost ketaminu aktivovat σ (*K*i = 66.0 ± 10.0 μM) (Oye et al.,1992; Smith et al., 1987), κ (Ki = 85.2 ± 26.0 μM) (Hustveit et al., 1995), δ a μ opioidní receptory mohou být podkladem pro výraznější kognitivní zhoršení po chronickém zneužívání ketaminu (Butelman a Kreek, 2015)

Glutamátergní hypotéza vzniku SCHZ předpokládá, že zablokováním NMDA receptoru na inhibičních GABA interneuronech (a tím navozenou inhibicí inhibice) dochází ke zvýšenému výdeji glutamátu jak v PFC, tak v jiných oblastech mozku, zejména v thalamo-striato-kortikálních okruzích (Homayoun and Moghaddam, 2007). Kromě zvýšené glutamátergní transmise dochází i ke stimulaci ostatních monoaminergních systémů, zejména dopaminergního a serotonergního. Je přitom zajímavé, že psychotomimetické účinky

ketaminu jsou u zdravých dobrovolníků odolné nejen vůči lékům blokující výdej glutamátu (Anand et al, 2000; Krystal et al, 2005), ale i vůči antagonistům D2 receptoru (haloperidol) (Krystal et al, 1999). Možné vysvětlení této neúčinnosti může vyplývat z malého počtu dobrovolníků, nedostatečné dávky antipsychotické látky nebo časově nevhodného dávkování. Na druhou stranu, zvýšený glutamát v striatu u FEP byl normalizován po 4 týdnech antipsychotické léčbě (risperidon) (de la Fuente-Sandoval et al, 2013). Mezi léky působící proti zvýšenému výdeji glutamátu patří např. agonisté skupiny II metabotropních glutamátergních receptorů (mGlu2/3) (Cartmell a Schoepp, 2000). V 2. fázi klinické randomizované studii z roku 2007 se mGlu2/3 agonista ukázal jako bezpečný a dobře tolerovaný lék, který snižoval pozitivní a negativní symptomy u SCHZ pacientů (Patil et al, 2007). Bohužel v pozdějších studiích se neprokázal dostatečně dobře tolerovaný antipsychotický účinek těchto agonistů (Kinon et al, 2011; Stauffer et al, 2013). Stejně tak studie s látkami stimulujícími samotný hypofunkční NMDA-R přinesly rozporuplné výsledky (přehledně v Balu a Coyle, 2015) a malé zlepšení SCHZ symptomů (Millan, 2002).

Paralelně s hypofunkcí NMDA-R se pojí i ***dysfunkce GABAergního systému***, konkrétně úbytek 67-kDa isoformy syntetického enzymu GABY tzv. dekarboxylázy glutamové kyseliny (GAD67) (Guidotti et al, 2000) na parvalbumin (PV) (+) interneuronech v kortexu a hipokampu (Hashimoto et al, 2003; Benes et al, 2007). Mimo tyto struktury je snížení GAD67 popisováno v dlPFC (Akbarian et al, 1995), v přední cingulární kůře (anterior cingulate cortex, ACC) (Woo et al, 2004) a v motorickém a visuálním kortexu (Hashimoto et al, 2008). Snížení bílkoviny GAD67 a PV v hipokampu bylo opakovaně prokázáno i v post-mortem studiích SCHZ pacientů (Reynolds et al, 2004; Todtenkopf a Benes, 1998; Zhang a Reynolds, 2002). Podobný nález byl prokázán i v animálních modelech SCHZ založených na NMDA antagonismu (Keilhoff et al., 2004). Stejně tak bylo prokázáno významné snížení počtu somatostatinových hipokampálních interneuronů, které jsou důležité v regulaci účinnosti a plasticity excitačních vstupů do hipokampálních buněk (Konradi et al, 2011; Schobel et al, 2013). Je zajímavé, že přestože je počet obou dvou druhů interneuronů u SCHZ snížený, celkové je množství neuronů je v hipokampu normální (Konradi et al, 2011). Zatím není známo, jestli jsou u SCHZ interneurony nenávratně poškozeny nebo jestli pouze exprimují méně mRNA a proteinu.

Nálezy extracelulární hladiny GABA jsou rozporuplné. V MRS studii od Yoon et al, 2010 se ukázalo, že 50% pacientů má snížené hladiny GABA ve vizuálním kortexu. Na druhou stranu, jiná MRS studie potvrdila zvýšenou prefrontální koncentraci GABA a glutamátu v raných stádiích SCHZ onemocnění, avšak sníženou u chronických pacientů

(Kegeles et al, 2012; Natsubori et al, 2014). Uvedená zjištění lze s určitou mírou zjednodušení interpretovat tak, že psychóza může být charakterizovaná spíše zvýšenou hladinou a chronická forma SCHZ spíše sníženou hladinou GABA. Výše uvedené zjištění komplikují výsledky se zdravými dobrovolníky, kde se po podání ketaminu snížila prefrontální koncentrace GABA (Scheidegger et al, 2012). Částečné vysvětlení nám však může podat dynamika GABAergního systému, která částečně odpovídá dynamice koncentrace glutamátu. Z meta-analýzy z roku 2013 vyplynulo, že koncentrace glutamátu se během SCHZ onemocnění mnohem rychleji snižuje v porovnání s kontrolami (Marsman et al, 2013). Paralelně s ním se tudíž může snižovat koncentrace GABA. Vazebné studie neukázaly významný rozdíl v hustotě GABAergních receptorů u převážně chronicky medikovaných SCHZ pacientů (přehledně v Taylor a Tso, 2015). Role GABAergního systému u SCHZ se komplikuje i tím, že GABA agonisté mohou zabraňovat psychotickým projevům v časných fázích relapsu (Carpenter et al, 1999). Naopak, GABA antagonisté indukují psychózu u klinicky stabilních SCHZ pacientů (Ahn et al, 2011). Psychotomimetické účinky 5-HT2A parciálního agonisty (mCPP) u zdravých dobrovolníků byly též zesíleny kompetitivním GABA antagonistou s inverzními agonistickými účinky (D'Souza et al, 2006). Z výše uvedeného vyplývá, že psychóza může být důsledkem interakce i jiných přenašečových systémů (než dopaminu a glutamátu).

GABAergní interneurony tvoří pouhých 20% kortikální populace (Hendry et al, 1987). Jejich role spočívá v synchronizaci korové aktivity a poskytování *dopředné inhibiční vazby* (tj. excitace jedné skupiny inhibičních interneuronů aktivuje jiné inhibiční neurony, které inhibují jinou skupinu buněk) a *negativní zpětné vazby* (tj. inhibiční interneuron aktivovaný stejnou buňkou může být inhibován až po předchozí excitaci) (Galarreta a Hestrin, 1999). Dále jsou tyto „rychle-pálící" interneurony (zejména košíčkové a hvězdicové buňky) důležitými generátory mozkových gamma oscilací (Buzsaki et al, 1992; Csicsvari et al, 1999). Tyto oscilace jsou důležité pro paměťové funkce (Buzsaki and Draguhn 2004; Wang 2010) a jejich abnormality významně přispívají ke kognitivnímu zhoršení u SCHZ (Lewis et al, 2005a; Gonzalez-Burgos and Lewis, 2008). Provázanost a rovnováha v excitační a inhibiční složce velkou mírou přispívá ke správnému behaviorálnímu a kognitivnímu chování. Například z behaviorálního hlediska způsobuje genetická ablace NMDA-R snížení GAD67 a PV v hipokampu a kůře myši a tím u zvířat způsobuje zvýšenou lokomoci a deficit v senzorimotorickém zpracování informací (tzv. test prepulsní inhibiční akustické úlekové reakce ASR PPI, více viz Animální modely) (Belforte et al, 2010). Na druhou stranu ablace

NMDA-R v dospělosti tento účinek nemá a tím podporuje neurovývojovou teorii SCHZ (viz část Neurovývojové modely) (Belforte et al, 2010).

Další neuromodulátor podílející se na patogenezi schizofrenie je serotonin (5-hydroxytryptofan, 5-HT**).** Vzrůstající zájem o ***serotonergní přenos v patofyziologii SCHZ*** má několik příčin. Mezi jednu z nich patří role 5-HT v emočních procesech a regulaci nálady (Dayan a Huys, 2008). Bylo prokázáno, že zhruba 25-50% pacientů se SCHZ trpí afektivními poruchami, zejména depresí (Buckley et al, 2005). Dalším ukazatelem role 5-HT u SCHZ jsou atypická antipsychotika, z nichž zejména risperidon, olanzapin, sertindol a ziprasidon vykazují vysokou-afinitu k 5-HT2A receptoru (tj. nízkou affinity konstantu, K_i) (Horáček et al, 2006) s vazbou na ostatní 5-HT receptory, zejména 5-HT1A, 2C a 7 (Meltzer, 2012). Zde se předpokládá, že 5-HT1A receptor se podílí svými účinky na zlepšení kognice (Sumiyoshi et al., 2001, 2007) a 5-HT1A agonismus indukuje nižší extrapyramidovou symptomatiku u některých klinicky užívaných atypických antipsychotik (Meltzer et al., 2003, Zazpe et al., 2006). Mezi další zapojení serotonergního systému v patofyziologii SCHZ patří psychotomimetické indolaminy/tryptaminy (např. LSD, psilocybin) a některé substituované fenyletylaminy (např. meskalin), které jsou používány v modelech určitých psychotických symptomů a zejména v indukci změn kognitivních, percepčních a emočních funkcí s doprovodnými tělesnými příznaky (Horáček 2005). Všechny tyto látky (tzv. halucinogeny) agonizují 5-HT2A, 5-HT1A a 5-HT2C receptory (Horacek 2005). Vzhledem k tomu, že klinický efekt halucinogenů je nepredikovatelný a značně variabilní, nekompetitivní antagonisté NMDA-R výrazně lépe modelují SCHZ než tryptaminy/fenyletylaminové halucinogeny (Jentsch a Roth, 1999; Krystal et al., 1999a; Vollenweider a Geyer, 2001). Na druhou stranu psychotomimetický LSD a psilocybin lépe indukují agitaci, úzkostnost, visuální halucinace a iluze, které jsou viděny u FEP v porovnání s NMDA antagonisty, kteří lépe napodobují negativní a kognitivní symptomatiku. Kromě aktivace 5-HT2C receptorů se u psychóz implikuje i role 5-HT2A receptoru, jehož aktivace zhoršovala psychotické symptomy u SCHZ pacientů (Abi-Saab et al, 2002). Vzhledem k tomu, že agresivita je spojována s aktivací serotonergního systému, hostilita a impulsivita pozorovaná v akutních fázích SCHZ může být odrazem zvýšených hladin 5-HT a jeho metabolitu kyseliny 5-hydroxyindoloctové (5-hydroxyindolacetic acid, 5-HIAA) (Muck-Seler et al, 2004; Markianos et al, 1992; Dursun et al, 2000). Meta-analýza post-mortem studií ukázala zvýšenou vazebnou kapacitu na 5-HT1A receptor a sníženou na 5-HT2A receptor zejména v PFC (Selvaraj et al, 2015). Nález snížené hustoty 5-HT2A receptorů však může být ovlivněn částečným 5-HT2A

antagonismem antipsychotik. In vivo zobrazovací metody ohledně 5-HT systému u SCHZ jsou však stále nejednoznačné (Selvaraj et al, 2014).

Role dalšího neuromodulátoru – ***acetylcholinu (ACh)*** v patofyziologii SCHZ - byla navrhnuta v souvislosti s kognitivním úpadkem a dysfunkčním ACh receptorem pozorovaným u neurodegenerativních onemocnění (např. u Alzheimerovy demence) (Haydar a Dunlop 2010). ACh je v CNS přenašeč účastnící se projekcí z nucleus basalis Meynerti do hipokampu, amygdaly a kortexu a projekcí z mesopontinního tegmenta. Oba systémy se podílejí na udržení pozornosti a kognitivních procesech. U SCHZ je zkoumán zejména alfa7-nikotinový receptor, jehož parciální agonista zlepšoval pracovní paměť u kouřících i nekouřících pacientů se SCHZ (přehledně ve Freedman, 2014). Je pozoruhodné, že klozapin zvyšuje výdej acetylcholinu v hipokampu (Shirazi-Southall et al, 2002) a předpokládá se jeho nepřímý agonistický účinek na alfa7-nikotinové receptory (Freedman 2014). Klozapin taktéž potlačuje extrapyramidové (parkinsonské) příznaky, kde se předpokládá jeho vliv na cholinergní systém. Uvedená zjištění lze s určitou mírou zjednodušení shrnout tak, že ovlivnění cholinergního systému může SCHZ pacientům částečně projasnit příznaky v rámci negativní a kognitivní symptomatiky.

Mezi dalšími faktory v patofyziologii SCHZ se uvažuje o noradrenalinu (z angl.. norepinephrine, NE), oxytocinu a kanabinoidních receptorech. U SCHZ se potvrdil zvýšený NE a jeho metabolit 3-methoxy-4-hydroxyfenylglykol, který koreloval s celkovou psychopatologií, pozitivní symptomatikou a paranoiditou (Dajas et al, 1983; Ko et al, 1988). Antipsychotická léčba vedla ke snížení těchto hladin a korelovala s redukcí v pozitivní symptomatice (Kaneko et al, 1992). Oxytocin je známý pro svůj účinek na sociální chování a zvyšování pocitu důvěry a empatie. U pacientů se SCHZ se po intranazálním podání oxytocinu zmírňoval kognitivní deficit a některé pozitivní symptomy (Pedersen et al, 2011). Mezi další kandidáty objasnění SCHZ patří preklinické, epidemiologické a experimentální studie, které podporují asociaci mezi kanabinoidními agonisty a psychózou. Bylo zjištěno, že aktivní složkou kanabisu je delta-9 tetrahydrokanabinol (THC), který agonizuje kanabinoidní receptor 1 (CB1). CB1 je nejrozšířenější kanabinoidní receptor v mozku, lokalizovaný hlavně v mozečku, hipokampu a PFC. Tento receptor hraje hlavní roli v ovlivňování hladin excitačních a inhibičních neurotransmiterů a inhibičně moduluje výdej GABA v PFC. Z toho vyplývá, že změny v CB1 by mohli částečně působit na kognitivní deficit. Preklinické studie popisují snížení CB1 v různých mozkových oblastech důležitých v kognitivních procesech (Vigano et al, 2009; Ishiguro et al, 2010). V klinických studiích se ukázala zvýšená hladina

CB1 receptoru v různých oblastech mozku (např. dlPFC, ACC). Předpokládá se, že nerovnováha v neurotransmisi způsobená zvýšenou hladinou CB1 receptoru v okruzích dlPFC a ACC může být příčinou zhoršení pracovní paměti (dlPFC) stejně jako zhoršení v procesu motivace, pozornosti a emočních odpovědí (ACC). Mezi další důkazy zapojení kanabinoidního systému u SCHZ bylo zjištění, že podání syntetického CB1 agonisty vyvolalo psychotické symptomy u některých zdravých dobrovolníků (D'Souza et al., 2004; Zuurman et al., 2009). Strukturální abnormality u SCHZ navíc podporuje i nález SCHZ pacientů se závislostí na kanabisu, kteří měli větší deficit v bílé hmotě a výraznější kognitivní deficit v porovnání se pacienty bez závislosti na kanabisu (Ho et al, 2011). Kromě aktivace CB1 receptoru se uvažuje i o receptoru CB2, který dle preklinických studií indukuje SCHZ-podobné behaviorální a funkční deficity (Ishiguro et al, 2010). Nízké periferní hladiny kanabinoidního CB2 receptoru byly potvrzeny u FEP (Bioque et al, 2013) i u exacerbace psychózy u medikovaných SCHZ pacientů (De Marchi et al, 2003). Role endokanabinoidního systému v patofyziologii SCHZ však zůstává stále nejasná a potřebuje další studie.

1.4 Neuronální sítě podílející se na SCHZ

Předpoklad, že SCHZ by mohla být spojena s narušenou komunikací mezi různými oblastmi mozku, se objevil již na počátku 20. století. Wernicke v roce 1906 navrhoval, že psychóza vzniká z anatomického narušení asociačních vláken. Bleuler tuto myšlenku definoval později v termínech psychopatologie a označil SCHZ jako nemoc charakterizovanou „rozštěpenou myslí" (z řečtiny schizein (σχίζειν, "rozdělit, rozštěpit") a phrēn, phren- (φρήν, φρεν-, "mysl")(Bleuler, 1911). Z doslovného významu rozštěpené (rozdvojené) komunikace mezi hemisférami se až v metaanalýze v roce 2008 potvrdil menší objem corpus callosum u SCHZ pacientů (Arnone et al, 2008), což by mohlo podporovat představu sníženého inter-hemisferálního spojení. Nicméně zobrazovací metody v posledních 20 letech spíše potvrdili diskonekci „předo-zadní" navrhnutou v roce 1998 Fristonem (Friston, 1998), vycházející z abnormálního anatomického spojení mezi horními temporálními a frontálními oblastmi (Friston a Frith 1995). Později se objevily nálezy snížené anatomické konektivity fronto-temporální v různých stádiích onemocnění psychotického spektra (Pettersson-Yeo et al, 2011) včetně chronických psychotických pacientů (Bluhm et al, 2007; Woodward et al, 2011; Zalesky et al, 2012). Medikace atypickými AP redukuje funkční abnormality u SCHZ (Davis et al, 2005) normalizací fronto-temporální aktivity (Lahti et al, 2003) a normalizací funkční konektivity v prefrontální, thalamické a pravé mozečkové oblasti (Stephan et al, 2001).

Kromě anatomického propojení je klíčové i funkční spojení mezi jednotlivými oblastmi, kde hraje roli přesná časová souhra aktivit mezi různými mozkovými oblastmi (Fingelkurts et al, 2005). Funkční konektivita v klidovém režimu (resting state functional connectivity) ukazuje míru shody časového průběhu biosignálu dvou nebo více oddělených oblastí, a - v jistém smyslu – běžnou aktivitu interneuronů, jejich spoje a celkovou korovou synchronizaci. Předpokládá se, že klidová funkční konektivita musí být zprostředkována na nějaké úrovni anatomickým propojením. V této souvislosti je např. anatomické i funkční fronto-temporální propojení důležité pro správné fungování pracovní paměti (Gazzaley a Nobre, 2012). Naproti tomu funkční konektivita během provádění úkolů (task dependent functional connectivity) se odkazuje k tomu, zda změna ve funkční konektivitě mezi oblastmi koreluje se změnami během řešení úkolů. Deficit v pracovní paměti pozorovaný u SCHZ může tedy souviset s narušením rovnováhy ve funkční i anatomické fronto-parietální konektivitě. Hodnocení funkční konektivity se provádí pomocí různých funkčně-zobrazovacích metod, například během multi-kanálového EEG nahrávání (tzv. EEG koherence, více v části 1.6.4), nebo pomocí metod zaměřených na hemodynamické změny - tj. ve funkční magnetické resonanci (fMRI), kde se korelují nízko-frekvenční BOLD (blood oxygen level dependent) signály ve dvou a více oblastech. Zobrazovací metody jako fMRI nebo PET nám umožňují dobré prostorové rozlišení jednotlivých struktur oproti EEG, které poskytuje dobré časové rozlišení.

V souvislosti s funkční propojeností je u SCHZ popisována jak zvýšená, tak i snížená funkční konektivita ve všech EEG frekvenčních pásmech, nejvíce však v gamma pásmu (Sheffield a Barch, 2016). Většina nedávných studií však popisuje spíše diskonekční stav (Roiser et al, 2013; Sheffield a Barch, 2016). Tato funkční diskonekce je zřejmě založena na menším počtu synaptických spojů, ve snížené účinnosti celkového přenosu informací a ve snížené místní konektivitě (Micheloyannis et al, 2006; Lynall et al, 2010).

Ve srovnání se SCHZ pacienty se při modelování psychózy pomocí akutní subanestetické dávky ketaminu v humánních, ale i animálních modelech psychóz vyskytuje hypermetabolismus (zejména v PFC – tzn. hyperfrontalitu) a zvýšená celková i lokální konektivita (Vollenweider et al, 1997; Dawson et al, 2014). Stav zvýšené konektivity je ve zjevném rozporu s diskonekcí pozorovanou u SCHZ. Zvýšená konektivita během intoxikace ketaminem pravděpodobně odráží akutní psychotický stav, kde dochází k přílišnému šumu a ke snižování poměru signal-šum. Teorie „zvýšeného šumu“ u akutního psychotického stavu byla potvrzena i nedávnými studiemi s lidskými dobrovolníky, kde jak subanestetický

ketamin, tak i psilocybin (5-HT2A agonista) zvyšoval celkovou funkční konektivitu (Driesen et al, 2013; Carhart Harris et al, 2013). Vzhledem k etickým důvodům humánní studie s kontrolovanou chronicku aplikací ketaminu neexistují. K dispozici jsou však nálezy od chronických uživatelů ketaminu, kde je popisován snížený objem šedé hmoty ve frontálních oblastech (Liao et al, 2011) a významné snížení ve frakční anisotropii bilaterálně ve frontálním kortexu a v levém temporo-parietálním kortexu (Liao et al, 2010). Funkční dyskonektivita (hypofrontalita) však byla potvrzena po subchronické aplikaci NMDA antagonisty (PCP) v animálním modelu SCHZ (Dawson et al, 2014; Cochran et al, 2003; Dawson et al, 2012). Z výše uvedených údajů vyplývá, že změny navozené ketaminem představují spíše změny závislé na akutním psychotickém stavu. Z tohoto důvodu se nabízí teorie, že změny ve funkční konektivitě u SCHZ spíše odrážejí trvalý stav, který může maskovat změny konektivity během akutní exacerbace onemocnění. Dalším zajímavým nálezem, podporujícím teorii o hyperkonektivitě následované hypokonektivitou je nález zvýšené funkční konektivity u jedinců s vysokým rizikem SCHZ a v raných stádiích onemocnění (Anticevic et al., 2015).

Poslední možností jak hodnotit propojení jednotlivých oblastí je efektivní konektivita, která počítá s přímým či nepřímým vliv jednoho nervového systému na druhý na synaptické nebo populační úrovni (Friston 2011). Efektivní konektivita pak hodnotí kauzální vztahy, tedy to, jak se oblasti navzájem ovlivňují včetně směru (kauzality) jejich vzájemných interakcí. Studie s medikovanými SCHZ pacienty našly zvýšenou efektivní konektivitu společně se zvýšeným BOLD signálem během nulových podnětů mezi striatem a hipokampem a PFC oblastmi, v porovnání se zdravými dobrovolníky, kde byla zvýšená efektivní konektivita nalezena pouze během podnětů (Diaconescu et al, 2011). To potvrzuje teorii, že pacienti se SCHZ mají narušenou kognitivní flexibilitu, která se projevuje např. snížením aktivity v systému odměny. Během zapojení pracovní paměti se na druhou stranu objevuje u SCHZ pacientů snížená funkční a efektivní konektivita mezi hipokampem a PFC (Meyer-Lindenberg et al, 2005).

1.5 Elektroencefalografie

Podrobnější průzkum vztahů mezi nervovými buňkami nám může přinést i analýza elektroencefalografické (EEG) aktivity. Podstatou elektrické aktivity mozku jsou přesuny iontů v extracelulárním prostředí, které vedou ke vzniku elektromagnetického potenciálového

pole. Na úrovni velkého počtu neuronů (tzv. nervových populací) dává sečtení elektrických potenciálů synchronně aktivovaných populací pyramidových buněk vznik tzv. makroskopickým oscilacím, které lze následně registrovat na povrchu lebky (tzv. makroskopický záznam). Tento EEG záznam je tedy obrazem přesné časové koordinace a správně fungujícího spojení lokálních kortikálních nervových okruhů (neboli obrazem synchronizace). V literatuře se nejčastěji makroskopickému záznamu referuje jako rytmus nebo aktivita. Klinický se tento EEG záznam snímá buď v klidu (klidové EEG) nebo během expozice senzorickým stimulům / řešení kognitivních úkolů.

Makroskopické EEG se dělí na tzv. konvenční EEG, kde se vizuálně hodnotí jednotlivé 8-10 s úseky, jejich převládající typ rytmu (tzv. aktivita pozadí) a nepravidelnosti (např. epileptiformní výboje - vysokovoltážní komplexy hrotů a vln; vertexové ostré vlny při ospalosti apod), které se od aktivity pozadí liší trváním, amplitudou, frekvencí a tvarem. Alternativním přístupem je pak kvantitativní EEG (qEEG), kde se analyzuje elektrická aktivita mozku a kde určité kvantitivní vzory korespondují s určitou diagnózou nebo s kognitivním deficitem. Následná analýza pomocí Fourierovy transformace (FFT) přináší odhad zastoupení jednotlivých frekvenčních pásem (tzv. power spectral density) v celém frekvenčním pásmu (v tzv. výkonovém spektru /v textu jenom výkonu/, power spectrum). Kromě výkonového spektra lze hodnotit oscilační aktivitu i z jednotlivých elektrod (tzv. absolutní výkon) a následně spočítat procento z celkového výkonu (relativní výkon). Dalšími EEG veličinami je např. koherence, která hodnotí míru propojení mezi dvěma oblastmi (kanály) nebo např. kordance, kde se z každé elektrody posuzuje vztah mezi absolutním a relativním výkonem. Podkladem makroskopických oscilací jsou oscilace na úrovni jednotlivých neuronů (tzv. mikroskopické oscilace). Každý samostatný neuron je schopen vytvářet nervové oscilace buď změnami ve vlastním membránovém potenciálu, nebo ovlivňovat oscilační aktivitu post-synaptických neuronů. V literatuře se mikroskopickým oscilacím odkazuje pouze jako oscilace (např. gamma, theta oscilace apod).

Za neurofyziologický základ makroskopických i mikroskopických oscilací se považuje vzájemné působení mezi excitační (glutamát) a inhibiční (GABA) složkou. Čím delší trvání inhibičního postsynaptického potenciálu (IPSP) vytvářeného interneurony, tím pomalejší oscilační frekvence. Oscilační aktivita je posuzována v 5 základních frekvenčních pásmech – delta (0-4 Hz), theta (4-8 Hz), alfa (8-12 Hz), beta (12-30 Hz) a gamma (30 -90 Hz), poté epsilon (90 -140 Hz). Jednotlivá frekvenční pásma se objevují v různých fyziologických a patologických procesech. Všeobecně lze říct, že pomalé oscilace (v theta a alfa pásmu)

zahrnují větší počet neuronů v rozsáhlejších oblastech mozku a jejich pomalejší časový průběh usnadňuje lepší propojenost mezi těmito vzdálenými oblastmi. Na druhou stranu, rychlé kmitání v pásmu gamma a beta usnadňuje propojenost jednotlivých oblastí v užším prostoru a to především díky krátší délce axonů a tím jejich omezené vodivosti. Rychlé oscilace tedy nejsou schopny překonávat dlouhé vzdálenosti, a proto jejich role zahrnuje integraci místních okruhů např. u kognitivních činností (von Stein a Sarnthein, 2000).

1.6 EEG nálezy u schizofrenie

Vzhledem k heterogenitě SCHZ onemocnění jsou nálezy EEG místy rozporuplné. Heterogenita je daná v rámci onemocnění jako celku (tj. pozitivní vs. převažující negativní symptomatologie), stavem pacienta (akutní psychóza vs remise vs chronizující stav) a farmakoterapií (medikovaní vs drug-naive). Dále se poznatky EEG komplikují ve vztahu k různým kognitivním úkolům (pasivní vs aktivní úkoly). Zde se rozlišují pasivní kognitivní úkoly, např. senzorické (zapamatování si barev, tvarů apod), kde se mluví o evokovaném EEG. Evokované EEG oscilace jsou časově vázané odpovědi na podnět, a jejich aktivita je fázově-vázaná („phase-locked“) na začátek stimulu. Naproti tomu u indukovaného EEG se zapojuje vyšší stupeň kognitivních procesů (např. počítání, rozpoznávání předmětů atd) a oscilace nejsou tudíž vázané na začátek stimulu (Tallon-Baudry a Bertrand 1999).

Spojitost mezi jednotlivými přenašečovými systémy a nesprávně fungujícími okruhy u SCHZ zatím není známa (Gonzalez-Maeso a Sealfon, 2009; Haenschel a Linden, 2011; Fatemi a Folsom, 2009), uvažuje se však o kombinaci morfologických abnormalit, buněčných změn a abnormální aktivace nervových okruhů. Abnormální nervová synchronizace byla u SCHZ pozorována ve všech frekvenčních pásmech (Ford et al, 2007; Uhlhaas et al 2006; Ford et al, 2002, Tauscher et al, 1998). SCHZ-podobné EEG změny lze pozorovat i u FEP (Koenig et al, 2001), stejně jako v příbuzenstvu první linie (Hong et al, 2004). Další část disertační práce se zaměří na tyto změny.

1.6.1 Aktivita alfa pásma u SCHZ

Alfa pásmová aktivita je u zdravých dobrovolníků nejčastěji přítomna v zadních oblastech a vykazuje značnou interpersonální variabilitu (Haegens et al, 2014). Dále se normálně objevuje v bdělém relaxovaném stavu při zavřených očích a považuje se za odraz klidové aktivity (Klimesch 1999). Při otevření očí alfa aktivita typicky zmizí (tzv alfa

blokáda). Mezi další funkce alfa aktivity patří zapojení do aktivních paměťových procesů (Palva a Palva 2007) a do senzorických funkcí (Schurmann et al, 1997). Důležitá role alfa aktivity se přisuzuje kognitivnímu zpracování, kde hraje roli tzv. funkční inhibice, při které mozek vypíná nebo zapíná smyslové oblasti v závislosti na náročnosti úkolů (Foxe a Snyder 2011). Zastoupení alfa frekvence se s náročností úkolů u zdravých dobrovolníků zvyšuje (Haegens et al, 2014).

EEG studie u SCHZ pacientů potvrdily funkční hypofrontalitu, tj. snížení v alfa spektrálním výkonu nad prefrontálními oblastmi odpovídajícím nálezům ve funkčních zobrazovacích studiích (Merrin a Floyd 1992; Boutros et al, 2008). Toto snížení se objevuje i v pravé parietální oblasti (Merrin et al, 1986, 1988). Nález sníženého frontálního alfa výkonu koreluje s negativní symptomatikou, kterou lze zlepšit aktivací PFC (např. aplikací rTMS) projevující se zvýšeným alfa výkonem (Merrin a Floyd 1992; Boutros et al, 2014). Snížení klidového EEG v alfa výkonu a v koherencích se u SCHZ objevuje nezávisle na délce trvání nemoci (Lorenzo et al, 2015; Jetha et al, 2009) tj. bez rozdílu nemedikované FEP a chronické formy (přehledně v Boutros et al., 2008). Snížená korová funkční konektivita mezi fronto-parietálními oblastmi v klidovém režimu u FEP byla nedávno ukázána i v alfa-1 (8,5-10 Hz) frekvenčním pásmu (Lehmann et al, 2014).

1.6.2 Aktivita beta pásma u SCHZ

Beta oscilační aktivita vzniká synchronizovanou aktivitou pyramidových buněk a interneuronů v hlubokých vrstvách senzorického a asociačního kortexu (Roopun et al, 2006). Podobně jako aktivita v gamma pásmu je i beta aktivita spojována s mozkovými oblastmi podílející se např. na pracovní paměti (Salazar et al, 2012), rozhodování (Pesaran et al, 2008) a pozornosti (Buschman et al, 2007).

Přestože se jak gamma, tak i beta oscilace podílejí na synchronizaci nervových oblastí v malých vzdálenostech, beta oscilace se – do jisté míry - ukázaly být důležité v propojení mezi jednotlivými vzdálenými oblastmi neokortexu. Jako příklad lze uvést synchronizaci v beta oscilacích v rámci extra-striatálních a temporo-parietálních oblastí. Vzhledem k tomu, že se tyto oblasti podílejí na zprostředkování pozornosti (Tallon-Baundry 2004; von Stein et al, 1999), bývají beta oscilace studovány taktéž u onemocnění se zhoršenou kognitivní složkou. Nálezy spontánní klidové beta aktivity jsou u SCHZ pacientů heterogenní (zvýšené vs bez změn) (Ranlund et al, 2014; Rutter et al, 2009). Během řešení kognitivních úkolů je

převažujícím nálezem u SCHZ snížení v beta a gamma oscilacích (přehledně Uhlhaas a Singer, 2010). Dalším zajímavým faktem je, že všechna spánková stádia u nemedikovaných SCHZ pacientů vykázala vyšší množství výkonu v beta a gamma pásmu (Tekell et al, 2005). Tento nález byl ve studii od Tekell et al, 2005 patrný pouze u pacientů s pozitivní symptomatikou a svědčí o možné provázanosti halucinací/percepčních abnormalit s nepravidelnostmi ve vysokofrekvenční aktivitě. Podobný nález byl popsán u halucinací, kde nárůst výkonu v beta pásmu korespondoval s halucinujícími pacienty v porovnání s pacienty bez halucinací (Lee et al, 2006). Zvýšená vysokofrekvenční aktivita v beta pásmu byla popsána i u pacientů s rizikem psychózy (Ramyead et al, 2014). Tato abnormální beta aktivita může být projevem premorbidního poklesu pozornosti a poklesu kognitivních funkcí před vypuknutím psychotické poruchy.

1.6.3 Nízko-frekvenční pásmová aktivita - delta a theta u SCHZ

Nízkofrekvenční delta oscilace jsou implikovány v synchronizaci mozkové aktivity s autonomími funkcemi, v motivačních procesech spojených s odměnou a obrannými mechanismy. Delta oscilace jsou taktéž spojovány s kognitivními procesy jako pozornost (Knyazev 2007). Dále jsou fyziologicky delta oscilace charakteristické pro spánek.

Naproti tomu theta oscilace jsou většinou spojovány s integrací informací mezi vzdálenými mozkovými oblastmi (Basar-Eroglu a Demiralp, 2001), například v sensorimotorické integraci (Bland a Oddie, 2001), dále v kognitivních procesech jako deklarativní paměť (Jacobs et al, 2006; Vertes 2005) a poté taktéž v REM spánku (a upevnění informací v dlouhodobé paměti - memory retrieval) a v pracovní paměti (Klimesch et al, 2008). Opakovaně bylo prokázáno, že zatížení pracovní paměti u zdravých dobrovolníků je spojováno se zvýšením frontální a temporální theta aktivity (Klimesch et al, 1999; Jensen a Teche 2002). Z výše napsaného vyplývá, že theta aktivita vzniká v oblastech důležitých pro uchovávání a vybavení informací z pracovní paměti (maintenance, recall) (Cohen et al, 1997; Petit et al, 1998; Smith a Jonides, 1999) dále např. v předním cingulu (Ishii et al, 1999), v mediální PFC (Asada et al, 1999).

Jinak je tomu u hlodavců. Zde je theta aktivita generována zejména v hipokampu, dále se theta aktivita může objevovat např. v kortexu (entorinální, cingulární, prefrontální) a v amygdale. Za výraznou hipokampální theta aktivitou u hlodavců stojí zejména jejich vysoce rozvinutý čichový epitel a vomeronasální Jacobsonův orgán. Čich je natolik důležitým

smyslem pro hlodavce, že se jeho ztráta přirovnává k situaci, kdy člověk přijde o hlavní senzorický smysl – zrak či pokud člověk ztratí paměť. Bdělost a pozornost u potkanů zostřuje jejich olfaktorický systém a zároveň tvoří hipokampální theta aktivitu.

Jedním z nejkonsistnějších nálezů u SCHZ je zvýšení oscilací v nízkých frekvenčních pásmech, delta a theta (Moran and Hong, 2011; Clementz et al, 1994; Fehr et al, 2003). Zvýšená klidová delta aktivita je u SCHZ pacientů patrná zejména ve frontální (Ranlund et al, 2014; Boutros et al, 2008) a temporálním kůře (Siekmeier a Stufflebeam 2010; Fehr et al, 2003; 2001).

U zdravých dobrovolníků stejně jako u SCHZ pacientů je popisováno snížení evokované a indukované theta a delta aktivity během řešení kognitivních úkolů (Ford and Mathalon, 2008, Doege et al, 2009, 2010; Donkers et al., 2011; Siekmeier a Stufflebeam, 2010). Podrobnější analýza dynamiky theta aktivity popisuje u SCHZ zvýšení časné temporální a snížení pozdní frontální theta aktivity (Schmiedt et al, 2005).

fMRI studie SCHZ pacientů a jejich sourozenců, které zkoumaly inter-hemisferální funkční propojení, našly sníženou konektivitu dokonce i u velmi pomalých frekvencí (pod 0,1 Hz) (Hoptman et al, 2012; Luo et al, 2015). Administrace subanestetické dávky ketaminu zdravým dobrovolníkům vedla ke zvýšeným gamma a ke sníženému zastoupení theta-alfa a delta frekvenčního pásma (Hong et al, 2010). Tento nález je podobný preklinickým studiím (Lazarewicz et al, 2009; Hunt et al, 2006).

Zde je na místě zmínit složitost a překrývání některých mozkových dějů, např. senzorických a kognitivních funkcí. Nejznámější a nejprostudovanější je přítomnost gamma oscilací v určitých fázích theta cyklu – tzv. synchronní spojení theta-gamma (theta-gamma coupling) pozorované jak intrakraniálně (Canolty et al, 2006), tak u skalpového EEG (Demiralp et al, 2007). Podle tohoto modelu jeden theta cyklus nese informace důležité pro pozornost a pracovní paměť. Tím, že theta oscilace umožnují synchronizaci více vzdálených oblastí a poskytují časový prostor pro jejich uspořádání, zatímco gamma oscilace představují jednotlivé místní složky informace, se propojení theta-gamma cyklů považuje za celkové sjednocení jednotlivých místních informací. Theta-gamma coupling tvoří významný podklad pro procesy spojené s kognitivními funkcemi a ve zpracování prostorového zobrazení (Lisman and Buzsaki 2008). U SCHZ bývají zmíněné abnormální interakce mezi nízkými a vysokými frekvencemi (tj. i mezi spojením theta-gamma) narušeny (Moran a Hong, 2011).

Tím se z gamma-theta coupling stává užitečný nástroj pro zkoumání paměti a učení u onemocnění postihující kognitivní funkce.

1.6.4 Aktivita gamma pásma u SCHZ

Synchronizace mezi různými nervovými sítěmi v gamma pásmu (tzv. gamma oscilace) poskytuje propojení nervových sítí mezi různými oblastmi CNS a slouží ke snažší výměně informací (Basar et al, 2001; Singer a Gray 1995; Tallon-Baudry et al, 1997). Tato synchronizace je důležitá pro souvislou a správnou formaci vnějších senzorických stimulů a ke správnému zapojení kognitivních činností (Basar et al, 2000). Jako příklad propojení procesů pomocí gamma oscilací lze uvést pracovní paměť, která skladuje mnoho různých typů informací, které je zapotřebí ke komplexnějším úlohám a manipuluje s visuálními/sluchovými informacemi, které následně zpracovává šedá hmota v PFC a parietálním kortexu (De Pascalis a Ray 1998; Howard et al, 2003). Mezi podobné příklady patří například pozornost (Tallon-Baudry 2004), dlouhodobá paměť (Fell et al, 2001) nebo schopnost kódovat sensorické informace („Perceptual encoding“). Fyziologicky se amplituda gamma oscilací zvyšuje s větším zatížením paměti. Všechny zmíněné domény jsou u SCHZ trvale narušené, bývají rezistentní k léčbě a jsou pravděpodobně způsobené abnormalitami v synchronizaci gamma aktivity (Uhlhaas et al, 2008).

Předpokládá se, že gamma oscilace vznikají v rychle pálících interneuronech v granulární a superficiální vrstvy kůry (Llinas et al, 1991) a v hipokampu (Wang a Buzsaki 1996). Umělá aktivace těchto rychle pálících interneuronů navozuje vznik gamma oscilací (Billingslea et al, 2014; Tatard-Leitman et al, 2015). Tyto rychle-pálící interneurony synchronizují svůj výstup skrz rychlou vzájemnou GABAergní inhibici, která je následně prohloubena rozsáhlými inhibičními synapsemi pyramidových buněk (Bartos et al, 2007; Whittington et al, 1995). Inhibiční výstup těchto rychle pálících interneuronů je mediován jak GABA-A, tak i GABA-B receptory. Zvýšení gamma oscilací pomocí GABA-A IPSP se prokázal v několika studiích v kůře a hipokampu (Bartos et al, 2007; Whittington et al, 1995), podobný nález indukovala i blokáda GABA-B receptoru je v hipokampu (Leung a Shen 2007). Naopak, antagonismus GABA-A a aktivace GABA-B receptoru vedl ke snížení jak spontánních tak stimulovaných gamma oscilací (Whitington et al, 1995; Brown et al, 2007). Dále se na vzniku gamma oscilací podílejí gap junctions a ostatní receptory glutamátergního systému. Role dopaminergního systému v genezi gamma oscilací není známa, ukázalo se

však, že specifická aktivace dopaminového D4 receptoru zvýšila výkon gamma oscilací (Andersson et al, 2012).

Gamma oscilační aktivita může být pozorovaná jak bazálně tak může být navozena senzorickou stimulací např. vizuální nebo sluchovou. V odpovědi na senzorický stimulus (sluchový, visuální, somatosensorický, čichový nebo buněčný) se vyskytuje jako první komponenta tzv. časná (evokovaná) gamma (v rozmezí 20-250 ms po začátku stimulu). Tato aktivita je těsně vázaná na začátek stimulu. Časná gamma je primárně senzorický fenomén a není tedy závislá na kognitivních doménách a neliší se mezi zdravými dobrovolníky a SCHZ pacienty (Gallinat et al, 2004). Pozdní (indukovaná) gamma (220-350 ms) se podílí na percepčním a kognitivním zpracování informací a vztahuje se k procesům pozornosti a paměti (Pulvermuller et al, 1999; Tallon-Baudry a Bertrand 1999). Fyziologicky se u lidí amplituda gamma oscilací zvyšuje s větším zatížením paměti. U potkanů se vyskytují gamma oscilace např. při zapamatování si dané cesty k odměně.

Hlavní roli v generaci patologických gamma oscilací u SCHZ hraje snížené množství GABA neurotransmiteru na (PV+) interneuronech v dlPFC (snížená exprese GAD67 a GAT1 mRNA) (Blum a Mann, 2002; Uhlhaas et al, 2011). Tyto interneurony slouží k celkové synchronizaci aktivity pyramidových neuronů např. během úloh spojených s pracovní pamětí (Tallon-Baudry et al, 1998; Howard et al, 2003). Podle hyperglutamátergní teorie SCHZ dochází ke snížení funkce NMDA receptorů na pyramidových neuronech a interneuronech (v kůře a v hipokampu). Vzhledem k tomu, že interneurony slouží k celkové korové synchronizaci, vede snížená inhibice pyramidových buněk k disorganizaci a zvýšeným gamma oscilacím. Role abnormální hladiny dopaminu v genezi gamma oscilací zatím není jasná.

V klidových EEG záznamech se u medikovaných SCHZ nachází zvýšení v gamma výkonu ve frontálních a temporálních oblastech (Venables et al, 2009) a snížení v zadních oblastech mediálního parietálního kortexu (Rutter et al, 2009). Během psychotické episody se taktéž zvyšuje zastoupení gamma oscilací nad somatosensorickým kortexem a fokálně frontocentrálně vlevo (Baldeweg et al, 1998). Z přehledného článku od Herrmann a Demiralp, 2005 vyplývá, že zatímco pozitivní symptomatika je spojována se zvýšením v gamma aktivitě, u SCHZ pacientů s převládající negativní symptomatikou převažuje spíše celkové snížení v gamma aktivitě (Herrmann a Demiralp, 2005)

Všeobecně je u SCHZ pacientů během řešení různých kognitivních úkolů gamma výkon snížený (Uhlhaas a Singer, 2010) a to zejména ve frontálních oblastech (Minzenberg et al, 2010).

V pasivních behaviorálních úlohách, které vyžadují minimální kognitivní zpracování, se našlo ve většině studií u SCHZ pacientů snížení gamma oscilací jak evokovaných tak indukovaných ve frontálních event. fronto-centrálních oblastech (Farzan et al, 2010; Spencer et al, 2008, Gallinat et al, 2004, Ferrarelli et al, 2008).

V aktivních behaviorálních úkolech (např. spojování senzorických stimulů do koherentních struktur nebo účast pracovní paměti při řešení úkolů) je gamma aktivita taktéž narušená. Vzhledem k variabilitě a náročnosti úkolů se gamma aktivita u SCHZ pacientů odlišuje. V senzorických úkolech (např. v úkolu iluzorního čtverce, kde jedinci rozlišují mezi čtvercem tvořeným čtyřmi vyříznutými a otočenými kruhy vytvářející uvnitř čtverec anebo otočenými vyříznutými kruhy, které netvoří čtverec) se u zdravých dobrovolníků indukovala gamma aktivita v levém okcipitálním oblasti, zatímco u SCHZ byla gamma opožděná a posunutá do beta pásma (Spencer et al, 2003; 2004). V úkolech zahrnující pracovní paměť se u SCHZ frontální gamma aktivita abnormálně zvýšila (Barr et al, 2010; Basar-Eroglu et al, 2007) nebo nezvýšila tolik jako u zdravých dobrovolníků (Cho et al, 2006). Konkrétně např. při „N-back" testu, kdy jsou účastníkům prezentovány podněty a jejich úkolem je vybavit si podnět dva či více kroků zpět, se vyskytla signifikantně vyšší frontální gamma aktivita u SCHZ pacientů bez ohledu na míru kognitivní zátěže (počet kroků zpět) (Basar-Eroglu et al, 2007; Barr et al, 2010). Zvýšená gamma aktivita během zapojení pracovní paměti by mohla být odrazem celkově oslabené inhibiční složky (např. úbytkem GABA interneuronů), což podporuje i nález deficitu v inhibici frontálních gamma oscilací v TMS-EEG (Farzan et al, 2010). Nedávné studie rovněž prokázaly zvýšenou koncentraci GABA a glutamátu v raných stádiích SCHZ a naopak sníženou koncentraci těchto neurotransmiterů u chronických SCHZ pacientů (Kegeles et al., 2012; Natsubori et al., 2014). Výkon v N-back testu taktéž negativně koreloval s negativními symptomy (Barr et al, 2010).

Narušená klidová i evokovaná gamma aktivita je pozorována jak u FEP (Symond et al, 2005), tak u nemedikovaných SCHZ pacientů (snížená - Gallinat et al, 2004) a do značné míry i u nepostižených rodinných příslušníků (Leicht et al, 2010). SCHZ pacienti s menší dezorganizací vykázali vyšší mezioblastní konektivitu v gamma pásmu (Andreou et al, 2015).

Opačné výsledky s gamma oscilacemi přináší studie se zdravými dobrovolníky po aplikaci NMDA antagonistů. Subanestetická dávka ketaminu zdravým dobrovolníkům vede ke zvýšení výkonu v gamma oscilacích v klidovém stavu a v odpovědi na sluchový senzorický stimul (Hong et al, 2010). Nedávná data ze zobrazovacích studií ukázala, že subanesteticý ketamin zvyšuje celkovou mozkovou konektivitu (Driesen et al, 2013). Je zajímavé, že gamma oscilace jsou pozorovány i v anestetických dávkách jak u potkanů, tak u lidí (Kochs et al, 1991; Maksimow et al, 2006; Nagy et al, 2016). Zůstává tedy otázkou, jestli vlastnost ketaminu jako látky vyvolávat gamma oscilace je relevantní k patofyziologii SCHZ.

Farmakodynamický profil jednotlivých antipsychotik je komplexní (tj. různé disociační konstanty), proto je účinek antipsychotik na oscilační aktivitu taktéž rozdílný. Olanzapin a klozapin snižují celkovou alfa a beta aktivitu bez účinku na gamma oscilace (Galderisi et al, 1996; Hubl et al, 2001). Naproti tomu v animální studii klozapin snižoval klidový kortikální gamma výkon bez účinku na ketaminem indukovanou gamma hyperaktivitu (Jones et al, 2012). Stejně tak i diazepam zpomaluje oscilační aktivitu ve všech frekvenčních pásmech po celém kortexu potkana (Scheffzük et al, 2013).

Zde je nutno uvést, že abnormality v gamma oscilacích se vyskytují i u jiných neuropsychiatrických onemocnění s narušenými kognitivními funkcemi např. u Alzheimerovy nemoci (Ribary et al, 1991), ADHD (Yordanova et al, 2001), nebo dokonce u traumatického mozkového poranění (Slewa-Younan et al, 2002).

1.6.5 Koherence u SCHZ

Jak již bylo zmíněno v části 1.4, funkční konektivitu mozku lze změřit pomocí časově nenáročné EEG metody. EEG nám umožňuje posoudit vztah mezi elektrofyziologickými signály z dvou různých oblastí pomocí např. koherencí, kde se porovnává stupeň jejich podobnosti mezi dvěma mozkovými oblastmi v čase. Přesněji, zvýšené koherence mezi dvěma oblastmi znamenají, že jejich amplituda v dané frekvenci a jejich časový (fázový) rozdíl (taktéž nazývaný úhel) jsou navzájem korelované. Jestliže je fázový úhel stabilní a neměnný v čase, je koherence 1. Snížené koherence indikují, že vztah mezi výkonem pod dvěma elektrodami a jejich fázový úhel je proměnlivý, tudíž se koherence blíží 0.

Výzkum studující problematiku EEG konektivity u SCHZ popisuje jak snížené (Merrin et al, 1989; Tauscher et al, 1998; Winterer et al, 2001) tak zvýšené EEG koherence ve

všech frekvenčních pásmech (např. Ford et al, 1986; Nagase et al, 1992; Mann et al, 1997; Wada et al, 1998). Jiné studie popisují snížení i zvýšení koherencí dle subtypu SCHZ a aktuální medikaci (Knott et al, 2002; Medkour et al, 2010). Nicméně jedním z replikovatelných výsledků je povšechné (tj. ve všech pásmech) snížení intra-hemisferálních fronto-temporálních a inter-hemisferálních (fronto-frontálních, temporo-temporálních) koherencí u SCHZ pacientů jak v klidovém EEG, tak v EEG během zapojení pracovní paměti (Higashima et al, 2007; Tauscher et al, 1998; Yeragani et al, 2006; Lawrie et al, 2002).

2. Animální modely schizofrenie a jejich elektrofyziologické koreláty

SCHZ je komplexní chronické onemocnění diagnostikované verbálním projevem, které je složité modelovat v animálním výzkumu. Hodnotu animálního modelu nemoci pak určuji tři úrovně validity, které posuzují, nakolik daný model skutečně odpovídá projevu SCHZ onemocnění. Predikční validita vyjadřuje schopnost předpovídat vybranou vlastnost nebo účinek chemické sloučeniny. Fenomenologická validita odkazuje ke shodě mezi projevy zvířete v daném modelu se symptomy SCHZ. Konstrukční validita závisí na tom, jak dobře jsou dané teorie a patofyziologické hypotézy převedeny do experimentálního uspořádání a jak se shodují s nálezy u SCHZ. Správný animální model by měl, pokud možno, splňovat všechny 3 úrovně validity. Vzhledem k tomu, že etiologie SCHZ je nejasná, není možné zcela naplnit konstrukční validitu. Animální modely SCHZ se tudíž snaží o vytvoření modelu, který umožní objasnit vznik a potvrdit příčiny tohoto onemocnění.

V animálních modelech jsou testovány zejména změny chování kvalitativní (např. stereotypie, vztyčování, čenichání, čištění se) a kvantitativní (lokomoce, PPI), dále pak biochemické (např. farmakokinetika, mikrodialýza) a elektrofyziologické parametry (zejm. EEG změny). Lokomoční aktivita je asociována s hyperdopaminergním stavem v mesolimbickém systému a představuje korelát pozitivních symptomů SCHZ (Lipska a Weinberger, 2000). Deficit ve zpracování informací se posuzuje pomocí prepulsní inhibice úlekové reakce (prepulse inhibition of acustic startle reaction, PPI ASR), kde se měří velikost úlekové reakce na nečekaný akustický podnět. V případě, že v řádu milisekund předchází tomuto podnětu předpodnět, tak se za normálních okolností úleková reakce zmenší. U některých psychopatologií – např. u SCHZ - však ke zmenšení úleku nedochází. Stejně tak u animálních modelů s monoaminergními halucinogeny a NMDA antagonisty nedochází ke zmenšení úleku (tzv. deficit v úleku). PPI ASR je fylogeneticky stará reakce a odráží změny

v informačním processingu. Mezi další behaviorální testy patří stereotypní chování, kde se pozoruje opakování jednotlivých behaviorálních aktivit trvajících méně než 1 sekundu, poté existují testy na kognici, kde se zapojuje pamět/učení. V neposlední řadě mají animální modely psychóz tu výhodu, že lze na nich testovat nové látky s potencionálním antipsychotickým účinkem.

2.1 Farmakologické animální modely

2.1.1. Glutamátergní a GABAergní model

Nejčastějším farmakologickým modelem SCHZ je model založený na akutním nebo chronickém podávání nekompetitivních antagonistů NMDA receptorů. V animálních modelech vedou akutní subanestetické dávky NMDA antagonistů k hyperlokomoci, k narušení PPI a z kvalitativních změn zejména k indukci plazení, třepání hlavou a stereotypiím. Opakování jednotlivých behaviorálních aktivit (např. kývání hlavou, čichání apod.) je považováno za odraz stereotypního chování taktéž pozorovaného u pacientů se SCHZ (Lipska a Weinberger, 2000). Glutamátergní modely umožňují indukovat jak pozitivní, tak negativní příznaky SCHZ.

Z hlediska EEG zvyšuje subanestetická dávka ketaminu basální (spontánní) gamma oscilace v kortexu (Hakami et al, 2009; Pinault et al, 2008) a v hippokampu (Ma a Leung, 2007). Podobné výsledky byly zjištěny i v naší předchozí studii, kde ketamin (30 mg/kg) indukoval masivní nárůst výkonových spekter ve všech frekvenčních pásmech nad celým kortexem a toto zvýšení jsem pozorovali nejenom v gamma pásmu ale i v delta a beta pásmu během behaviorální aktivity (Páleníček et al, 2011). Zvýšení v delta výkonu je pro NMDA antagonismus taktéž charakteristické a popisované v několika animálních studiích (Kiss et al, 2011; 2013). Ve studii od Nagy et al, 2016 je dokonce popisované zvýšení delta a gamma výkonu nejen po subanestetické, ale i po anestetické dávce ketaminu jak v kortexu, tak i v hipokampu. Je zajímavé, že v této studii přetrvával zvýšený výkon v gamma a theta pásmu nejenom během působení látky, ale i po 5-6 hodinách, kdy už byl ketamin eliminován z těla potkana (Nagy et al, 2016). Přesný mechanismus přetrvávání gamma-theta aktivity po jakýchkoli dávkách ketaminu není znám. Předpokládá se však, že navozený hyperglutamátergní stav je asociován se zvýšením gamma aktivity a toto zvýšení v gamma by mohlo spouštět synaptickou potentiaci podobnou dlouhodobé potenciaci (Gass et al, 2014).

In vitro snižuje akutní administrace ketaminu kainátem-indukované gamma oscilace v entorinálním kortexu, ale zvyšuje ji v primárním sluchovém kortexu (Roopun et al, 2008). In vitro nemá ketamin vliv na farmakologicky indukované gamma oscilace v hipokampu (Middleton et al, 2008b).

Je pozoruhodné, že samotný NR2A-preferující antagonista NVP-AAM077 taktéž zvyšuje gamma oscilace, které se však objevují později a trvají delší dobu (Kocsis 2012). NR2A-indukované zvýšení oscilací lze vysvětlit kompenzační up-regulací NR2A receptorů po aplikaci NMDA antagonisty MK801, přičemž k jiným významným zvýšením ostatních podjednotek NMDA-R nedochází (Wilson et al, 1998). Kromě zvýšení spontánní gamma aktivity pozadí, zvyšuje subanestetická dávka ketaminu v CA3 oblasti hipokampu i stimulem evokovanou gamma aktivitu (Lazarewicz et al, 2010). Na druhou stranu, spontánní a stimulem evokovaná theta aktivita je po aplikaci ketaminu snížená (Lazarewicz et al, 2010). Vzhledem k tomu, že na úrovni hipokampu je aktivita gamma-theta propojená, předpokládá se, že by theta oscilace mohly být maskovány/inhibovány přítomností gamma aktivity (Gillies et al, 2002). Jiným vysvětlením může být omezení činnosti hipokampálního theta generátoru a následné odmaskování gamma aktivity.

Ketamin aplikovaný lokálně do talamu potkanů zvyšuje delta oscilace, které jsou podobné těm pozorovaným u pomalo-vlnného spánku (SWS) u zdravých dobrovolníků (Zhang et al, 2012), tak těm pozorovaným během bdění u některých pacientů se SCHZ (Clementz et al, 1994).

Všeobecně lze říct, že nekompetitivní antagonisté NMDA-R - PCP a MK801 - produkují změny v EEG ve třech na dávce závislých fázích – 1/ nejdřív dochází k celkové korové desynchronizaci, 2/ poté se zvyšuje amplituda vysoko-frekvenčního nízko voltážního pozadí, a 3/ nakonec se objevují pomalé ostré vlnové komplexy (Sagratella et al, 1992; Popoli et al, 1994). Theta aktivita po malé dávce PCP je asociována s probuzením, lokomocí a stereotypiemi (Mattia et al, 1986).

Chronická administrace NMDA antagonistů v dospělosti (zejm. PCP) o něco lépe modeluje SCHZ např. tím, že navozuje výraznější kognitivní deficit (Jentsch a Roth, 1999). Chronická aplikace PCP dospělým potkanům vyvolává degenerační změny mozku (Olney a Faber, 1995), narušuje PPI a snižuje dopaminergní transmisi v PFC (Jones et al, 2011). Z hlediska EEG se po chronické aplikaci NMDA antagonistů snižují gamma oscilace v hipokampu (Roopun et al, 2008) a v kortexu potkanů in-vitro (McNally 2011). Z výše

uvedeného tedy vyplývá, že EEG nález po chronické aplikaci NMDA antagonistů částečně odpovídá nálezu u SCHZ pacientů.

Chronická neonatální administrace PCP v postnatálním dnu (PND) 7, 9 a 11 indukuje v dospělosti dlouhodobý kognitivní deficit (zejm. v pracovní paměti) (Nakatani-Pawlak et al, 2009), deficit v sociální interakci (Nakatani-Pawlak et al, 2009) a v PPI (Wang et al, 2001, Wang et al, 2003). Tyto zvířata mají nižší počet GABAergních interneuronů a nižší hustotu dendritických trnů v kortikolimbické oblasti (Nakatani-Pawlak et al, 2009; Uehara et al, 2012). Z hlediska elektrofyziologického mají dospělé myši exponované prenatálně PCP sníženou aktivitu neuronů v cornu amonis (CA3) oblasti hipokampu v odpovědi na sluchové podněty (Okamoto et al, 2012). Z toho vyplývá, že i tyto myši mají narušené senzorické zpracování informací, což je jeden ze základních nálezů u SCHZ. EEG data v tomto modelu zatím nejsou k dispozici.

Selektivní ablace GABAergních PV(+) interneuronů v potkaním PFC nebo selektivní snížení GABAergních PV(+) kortikálních interneuronů optogenní technikou zhoršuje kognitivní výkon a taktéž snižuje gamma oscilace (Sohal et al, 2009; Lodge et al, 2009). Na druhou stranu, myši se sníženou celkovou NR1 podjednotkou exprimující 5-10% obligátní NR1 podjednotky vykazují zvýšený basální gamma výkon měřený na povrchu kortexu (Dzirasa et al, 2009). Podobně i myši se selektivním knock-outem NR1 podjednotky v pyramidových buňkách a na PV(+) interneuronech mají zvýšený bazální gamma výkon v EEG (Tatard-Leitman et al, 2015; Billingslea et al, 2014). Z výše uvedeného vyplývá, že zhoršená funkce NMDA signalizace spolu se změnami v GABAergním systému v kortexu mohou vést ke zvýšené buněčné a sítové dráždivosti projevující se zvýšením gamma výkonu.

2.1.2. Serotonergní model

Akutní účinek halucinogenů je v rámci percepce a afektivní lability podobný symptomům v časných fázích psychozy a tudíž splňuje podmínky prediktivní a fenomenologické validity. K naplnění konstrukční validity však brání rychle rostoucí tolerance k subjektivním účinkům halucinogenů oproti SCHZ symptomům přetrvávajícím po celý život. Stejně tak přetrvává rozpor mezi halucinacemi navozenými LSD, které bývají typicky vizuální oproti sluchovým halucinacím charakteristickým u SCHZ. Kvůli polemikám ohledně validit nebývá modelování SCHZ pomocí aktivace serotonergních receptorů tolik rozšířený model oproti předchozímu (tj. glutamátergnímu). Studium samotné psychózy

navozené 5-HT agonisty nám však může přinést cenné poznatky ohledně vlivu serotonergního systému v patofyziologii SCHZ.

Akutní podání serotonergních halucinogenů (tzv. fenylethylaminů a tryptaminů) v animálních modelech navozuje časový a dávkově bifázický účinek na lokomoci (Geyer et al, 1979; Palenicek et al, 2006) a vede k rozvoji behaviorální odpovědi v rámci serotoninového syndromu (plazení, třepání hlavou, „wet dog shakes“ (otřepání mokrého psa)) se sterotypiemi. Před 60 lety popsaná a velice charakteristická odpověď na LSD je tzv. head twitch response (HTR) neboli rychlé a prudké třepání hlavou (Keller a Umbreit 1956; Canal a Morgan 2012). Z dalších behaviorálních charakteristik halucinogenů je důležité narušení odpovědi v testu PPI (Vollenweider a Geyer, 2001).

Z hlediska EEG neindukují serotonergní halucinogeny změny v klidových gamma oscilacích v dávkách produkujících behaviorální odpověď (Hiyoshi et al, 2014). Z výše zmíněného tedy vyplývá, že zvýšení v gamma pásmu nemusí být nutně spojováno s psychotomimetickým účinkem. Na druhou stranu jsou gamma oscilace ovlivňovány serotonergním systémem a jejich snížení je popisováno po 5-HT a 5-HT1A agonismu (Johnston et al, 2014; Krause a Jia 2005) a zvýšení u 5-HT2 agonismu (Krause a Jia 2005) jak 5-HT2A, tak i 5-HT2C receptoru (Johnston et al, 2014). Výše uvedené výsledky potvrzují již zmíněné preklinické/klinické studie, které ukazují na částečné antipsychotické účinky agonismu 5-HT1A receptoru (Sumiyoshi et al, 2001; 2007) a pro-psychotické účinky 5-HT2 agonismu (Abi-Saab et al, 2002; Carhart Harris et al, 2013).

Z hlediska theta aktivity se u potkanů aktivací 5-HT2C receptoru snižuje hipokampální theta jak u bdělé explorace, tak během REM spánku (obě aktivity asociované s učením a pamětí) (Sorman et al, 2011). Na druhou stranu, antagonismus 5-HT2A a 5-HT2C zvyšoval theta aktivitu v septo-hipokampálním systému (Hajos et al, 2003). Tyto výsledky podporují inhibiční roli 5-HT2C agonismu a aktivační roli v 5-HT2A/5-HT2C antagonismu v kognitivních/afektivních procesech a tudíž můžou potencionálně přispět k vývoji nových antipsychotiockých látek s účinnějším profilem v těchto oblastech.

2.1.3. Dopaminergní model

Animální modely s hyperaktivací dopaminergního systému nejčastěji využívají látky zvyšující extracelulární koncentraci dopaminu zejména v nucleus accumbens (Sharp et al,

1987). Předpokládá se, že hyperdopaminergní stav zvyšuje nepřímo i hladinu glutamátu (Shoblock et al, 2003). Nejvíce je užíván amfetamin nebo jiná psychostimulancia, která u potkanů vyvolávají hyperlokomoci, stereotypní chování a deficit PPI (Kokkinidis and Anisman 1980; Swerdlow and Geyer 1998). Akutní podání amfetaminů v animálních modelech je užíváno výhradně k indukci pozitivních příznaků SCHZ. V EEG studiích metamfetamin v nízkých dávkách (1-3 mg/kg) lehce, ale signifikantně zvýšil basální výkon v gamma pásmu, nicméně ve vyšších dávkách (do 10 mg/kg) ho snížil (Hiyoshi et al, 2014). Celkové snížení výkonového spektra ve studii s králíky indukoval jak akutně podaný metamfetamin, tak i kokain (Yamamoto, 1997). Podobné výsledky měla i jiná studie, kde amfetamin celkově snížil spektrální výkon ve všech frekvencích kromě beta-1 a beta-2 pásmové aktivity, kde bylo pozorováno zvýšení (Krapivin et al, 1995). Naopak, naše výsledky s amfetaminem (4 mg/kg) ukázaly na nárůst v delta pásmu nad frontálními a temporálními oblastmi a snížení beta výkonu nad celým kortexem (gamma se neměřila) (Páleníček et al, 2007).

Chronická aplikace amfetaminů u potkanů vyvolává tzv. senzitizaci, kdy akutní podání téže látky vede k nadměrné behaviorální odpovědi (Featherstone et al. 2008). Tyto modely se však nepoužívají k modelování SCHZ, vzhledem k tomu, že chroničtí uživatelé amfetaminů nemusí trpět typickými příznaky SCHZ. Další překážkou v použití těchto modelů je, že po chronické aplikaci nedochází k deficitu v sociální interakci (Sams-Dodd 1995) a kognitivní deficit je omezen pouze na funkce prefrontální kůry (Featherstone et al, 2008).

2.2 Neurovývojové modely

Neurovývojové modely se snaží vyvolat příznaky podobné SCHZ poškozením mozku během jeho vývoje (Sams-Dodd et al, 1997). Předpokládá se, že porucha nebo poškození během prenatálního nebo časného perinatálního období vývoje mozku způsobí zhoršené formování nervových spojů (tj. dysfunkci mozkové konektivity). Tato navozená dyskonektivita se později projeví propuknutím SCHZ. Hypotézy neurovývojových modelů taktéž vycházejí z rizikových faktorů SCHZ, které ovlivňují vývoj mozku během těhotentství. Mezi tyto faktory řadíme stres matky, infekce matky, nutriční deficity plodu a komplikace během porodu (hypoxie, nízká porodní hmotnost) (Brown a Derkits, 2010). Farmakologicky lze neurovývojové modely SCHZ navodit aplikací NMDA antagonistů, neurotoxinů nebo

teratogenů v prenatálním nebo časném postnatálním věku. Dospělí potkani posléze mají kognitivní deficit a zhoršenou prostorovou paměť (Sircar and Rudy 1998).

Klinické důkazy pro neurovývojovou teorii SCHZ vyplývají i z pozorování premorbidního motorického a kognitivního zhoršení u dětí (Keshavan et al, 2005) a u mladých dospělých (Reichenberg et al, 2005), u kterých se později rozvine SCHZ a u kterých bylo morfometricky prokázáno (např. pomocí DTI) dysfunkční propojení nervových drah (Lewis and Levitt, 2002; Fatemi and Folsom, 2009).

2.2.1 Maternální imunitní aktivace (MIA)

Indukce SCHZ-podobného fenotypu pomocí imunitní odpovědi matky je považovaný za neurovývojový model s vysokou validitou. Epidemiologické studie totiž poukazují na infekci těhotné ženy (zejm. virovou) a zvýšené riziko SCHZ u exponovaného potomka (Canetta and Brown, 2012). Jako příčinný faktor v rozvoji SCHZ se předpokládá imunitní odpověď matky. V preklinických studiích se nejčastěji vytvoří MIA pomocí aplikace bakteriálního toxinu v průběhu těhotenství nebo v časném postnatálním období (Jones et al, 2011). U MIA zvířat je popisována zvýšená striatální hladina dopaminu, deficit v PPI a v sociální interakci (Luchicchi et al, 2016). Podobně jako u SCHZ pacientů se u těchto zvířat rozvíjí i zvýšená behaviorální odpověď na amfetamin (Aguilar-Valles et al, 2010).

Elektroencefalografické studie u MIA modelu potvrdili sníženou fronto-temporální konektivitu a abnormální oscilační aktivitu (Lodge a Grace 2009; Phillips et al, 2012). Dále tento model vykázal snížené koherence mezi mPFC a zadním hipokampem v theta pásmu, které byli následně normalizovány klozapinem (Dickerson et al, 2012).

2.2.2 Neonatální léze ventrálního hipokampu (NLVH)

Model NLVH byl použit jako jeden z prvních neurovývojových modelů (Lipska et al, 1993) a je vyvolán administrací excitoxinu do ventrálního subregionu hipokampu v postnatálním dnu (PND) 7. Tato experimentální manipulace způsobuje trvalou inaktivaci ventrální části hipokampu (Lipska et al, 1993), struktury důležité pro regulaci stresu, emocí a nálady (Fanselow and Dong, 2010). Z hlediska buněčného a fyziologického vykazují NVHL potkani sníženou funkci kortikálních GABA receptorů (Endo et al, 2007; Tseng et al, 2008) a dysfunkční glutamátergní transmisi spojenou s hyperaktivním pálením kortikálních neuronů

(Chambers et al, 2010; Tseng et al, 2007). Behaviorální abnormality v tomto modelu nastávají během dospívání a dospělosti a zahrnují zvýšenou citlivost k psychostimulanciím, deficit v PPI a v sociální interakci a zhoršené kognitivní schopnosti (Lipska a Weinberger, 1993; Le Pen et al, 2003; Lee et al, 2012). Léze ventrálního hipokampu v dospělosti nevedou k výše popsaným behaviorálním abnormitám (Lipska et al, 2002). NVHL snižuje množství hipokampálních GABAergních interneuronů a narušuje expresi GAD (Francois et al, 2009).

Z elektrofyziologického hlediska se u dospělých NVHL potkanů vyskytuje snížený výkon v delta-theta, alfa a beta pásmu ve frontálních, parietálních a okcipitálních oblastech (Valdes-Cruz et al, 2012). V NVHL modelu se taktéž prokázala snížená gamma aktivita v odpovědi na senzorický stimul, která pravděpodobně souvisí s narušeným senzorickým zpracováním (Vohs et al, 2009).

2.2.3 Neonatalní expozice metylazoxymetanol acetátu (MAM)

Aplikace teratogenu metylazoxymetanol acetátu (MAM) 17. gestační den březím potkaním samicím je jedním z častěji používaných neurovývojových modelů. Farmakologické účinky MAM jsou různorodé a nejsou kompletně známy, nicméně pravděpodobný mechanismus změn je na úrovni syntézy DNA a RNA (Lafarga et al, 1997; Jones et al. 2011). MAM expozice během gestace narušuje vývoj neokortikálních a limbických struktur, snižuje počet neuronů v hipokampu a PV(+) GABA interneuronů v gyrus dentatus (Rice a Barone 2000, Jones 2011). Dospělí potomci exponovaní MAM mají hyperaktivní hipokampus, který pravděpodobně stojí za hyperdopaminergním stavem pozorovaným u psychoży (Lodge and Grace 2007). Z behaviorálního hlediska se u dospělých potomků po MAM expozici objevuje hypersensitivita k psychostimulanciím a NMDA antagonistům (Moore et al, 2006; Phillips et al, 2012), deficit v PPI a v pracovní paměti (Moore et al, 2006).

Elektrofyziologické poznatky u MAM zvířat zahrnují zvýšenou spontánní (basální) gamma aktivitu (Kocsis et al, 2012) a sníženou evokovanou gamma aktivitu během řešení kognitivních úloh (Lodge et al, 2009). U MAM zvířat se neobjevuje po NMDA antagonistech tak markantní zvýšení gamma aktivity jako u kontrol (Kocsis et al, 2012; Philips et al, 2012).

2.3 Genetické modely

Roli v rozvoji SCHZ hraje ve velké míře i genetický podíl a existuje několik genetických rizikových faktorů, které zvyšují riziko onemocnění a užívají se k modelaci SCHZ. Mezi nejznámější patří několik tzv. neurovývojových „vnímavých“ genů, např. neuregulin 1, DISC1, neurogranin, DTNBP1 a další (O'Tuathaigh a Waddington, 2015). Preklinické studie ukázaly, že narušená funkce těchto genů způsobuje např. zvýšený striatální výdej dopaminu (Niwa et al, 2010). U některých genetických modelů se objevuje i zvýšená aktivita po podání dopaminergních agonistů (Papaleo et al, 2012). Tyto genetické modely tudíž korelují s neurochemickými změnami u SCHZ pacientů.

Všeobecně se u genetických modelů se ukázala závislost gamma na stavu aktivace mozku. V modelech zahrnujících genetickou ablaci NMDA-R na PV(+) interneuronech jsou in-vivo popisované zvýšené basální gamma oscilace v neokortexu a hipokampu (Carlen et al, 2012; Korotkova et al, 2010). Po optogenetické stimulaci PV interneuronů se snížily gamma oscilace, stejně tak se snížily gamma oscilace po aplikaci NMDA antagonistů (Carlen et al, 2012). Jiné modely NMDA hypofunkce netýkajících se PV(+) interneuronů taktéž vykázali rozsáhlé zvýšení v basálním výkonu a snížení gamma oscilací v odpovědi na sluchovou stimulaci (Nakao et al, 2014).

V modelu DTNBP1 (dystrobrevin binding protein 1) se u myší s tímto kandidátním genem ukázal deficit v PPI a v adaptaci na sluchově vyvolanou odpověď. Dále se u těchto myší našly zvýšené basální gamma oscilace a deficit v evokované gamma aktivitě (Carlson et al, 2011).

Gen DISC1 hraje pravděpodobně roli v časném zrání nervové soustavy a ve formování a fungování synapsí. (Brandon a Sawa, 2011). Selektivní knock-out DISC1 v pyramidových neuronech ve vrstvách 2/3 PFC během časného vývoje se v dospělosti projevuje deficitem v PPI, snížením počtu PV(+) interneuronů a snížení v inhibičním účinku D2R agonistů (Niwa et al, 2010).

3. Shrnutí obecné části a stanovení cílů práce

Animální modely psychóz přináší řadu různorodých poznatků, kde látky působící jako NMDA antagonisté nebo 5-HT agonisté způsobují jak zvýšení, tak snížení výkonových spekter v závislosti na dávce a času podání (Dimpfel et al., 1987; Dimpfel et al., 1990; Fitzgerald et al., 2003; Krapivin et al., 1995; Sagratella et al., 1992; Yamamoto 1997).

K jiným nedostatečně vysvětleným poznatkům v animálních modelech patří vliv behaviorální aktivity na EEG parametry, kdy do nedávné doby existovala pouze jedna studie potvrzující vliv chování po aplikaci psychotomimetických látek na EEG nálezy (Maloney et al, 1997). K dalším diskutabilním výsledků patří nálezy v rámci EEG koherencí, kde jedním z největších nedostatků je implantace max. 4-6 aktivních elektrod (tj. 2-3 na hemisféru), což komplikuje komparaci s humánními nálezy.

Hlavním cílem této práce bylo zhodnocení změn v qEEG ve třech farmakologicky navozených animálních modelech psychózy. Pro srovnání jednotlivých modelů jsme si vybrali zástupce glutamátergního, serotonergního a dopaminového animálního modelu. Prvním z nich byl ketamin, který antagonizuje NMDA receptory, druhým z nich je látka 2C-B, která parciálně agonizuje 5-HT2A/C a 5-HT1A receptory a třetím zástupcem byl amfetamin, agonista D2 receptoru. Inovativním aspektem této práce bylo sledování chování potkana a následná qEEG analýza v behaviorálně pasivních a aktivních úsecích. Dalším metodickým přínosem našich EEG pokusů bylo naimplantování 12 aktivních elektrod (viz Speciální část - metodika) s cílem potencování možnosti translačního porovnání s nálezy u osob s psychózou. Výsledky qEEG nálezy byly navíc podpořeny biochemickými, farmakokinetickými a behaviorálními pokusy.

Specifické cíle této práce:

1/ charakteristika behaviorálních účinků NMDA antagonisty ketaminu a serotonergního agonisty 2C-B v testu lokomoční aktivity a v testu PPI ASR

2/ zhodnocení účinku ketaminu, 2C-B a amfetaminu v qEEG tj. v spektrálním výkonu a v koherencích u volně běhajících potkanů

3/ porovnání vlivu vyšší a nižší dávky ketaminu/2C-B na chování a funkční konektivitu mozku a spektrální výkon v rámci kvantitativního EEG

4/ zhodnocení vlivu behaviorální aktivity na qEEG (aktivita vs inaktivita)

5/ zhodnocení potencionálního antipsychotického účinku mGlu2/3 agonisty v behaviorálních testech a následné zhodnocení behaviorálně aktivní dávky v qEEG

6/ korelace EEG změn s farmakokinetickým profilem behaviorálně aktivní (tj. vyšší) dávky ketaminu

7/ objasnění účinku 2C-B na hladiny dopaminu a jeho metabolitů v prefrontálním kortexu a korelace s behaviorálními a qEEG účinky

SPECIÁLNÍ ČÁST

4. Dílčí cíle a hypotézy prezentovaných publikací

V první studii (Páleníček et al, 2011) jsme hodnotili vliv subanestetické dávky ketaminu na chování potkana v testu otevřeného pole a v testu PPI. Na základě dostupné literatury jsme použili dvě subanestetivké dávky ketaminu, abychom odlišili změny zprostředkované behaviorálním účinkem (vyšší dávka) a čistým farmakologickým účinkem bez efektu na chování (nižší dávka). Poté jsme analyzovali vliv obou dávek na výkonové spektra a koherence, kde jsme použili systém nahrávání frekvence od 1 do 40 Hz. Dále jsme v této studii hodnotili kinetiku ketaminu a metabolitu norketaminu v krvi a mozkové tkáni potkana, kterou jsme následně korelovali s behaviorálními a EEG změnami. Hypotézy v první studii zněly následovně: 1/ ketamin v obou dávkách vyvolá zvýšenou lokomoci v testu otevřeného pole, 2/ ketamin povede k deficitu v testu PPI ASR, 3/ ketamin v obou dávkách vyvolá změny ve funkční konektivitě mozku – zejména povede k nárůstu gamma oscilací a způsobí funkční diskonekci fronto-temporální.

V druhé studii (Fujakova et al, 2014) jsme navázali na předchozí výsledky. Zde jsme opět chtěli ověřit diskonekční teorii SCHZ a její normalizaci použitím agonisty metabotropních glutamátových receptorů. K modelaci psychózy jsme použili vyšší dávku ketaminu. Oproti předchozí studii jsme se hlavně zabývali EEG koreláty v behaviorálně klidových epochách, protože většina kvantitativních studií u SCHZ je natáčena v klidovém režimu. K porovnání změn jsme však analyzovali i behaviorálně aktivní úseky. Jak již bylo zmíněno v obecné části, qEEG studie u SCHZ popisují snížení pomalých vln nad frontálními oblastmi (Boutros et al, 2008) a abnormality v gamma pásmu jak v klidovém tak ve stimulu–evokovaném EEG (Sun et al, 2011). Vzhledem k heterogenitě SCHZ jsou popisovány nekonsistentní výsledky, v EEG koherencích je však často zmiňovaný pokles ve fronto-temporálních oblastech (Ford et al, 2002; Higashima et al, 2007; Yeragani et al, 2006). Jak již bylo uvedeno v Obecné části, veškeré změny jak v EEG, tak v chování v hyperglutamátergním modelu SCHZ mohou být teoreticky ovlivněny výdejem glutamátu na synapsích. Agonismus na NMDA-R tudíž může zabraňovat výdeji a mít antipsychotické účinky (Chaki, 2010; Marek, 2010; Patil et al, 2007). Antipsychotické účinky na mGlu2/3 receptorech se prokázaly v předchozích studiích např. tím, že tento agonismus snižoval glutamátový excitační postsynaptický potenciál (Anwyl 1999). Taktéž se popsalo i snížení gamma oscilací po aplikaci mGlu2/3 agonisty (Jones et al, 2012). Vzhledem k výše popsanému jsme se v naší práci zabývali účinkem agonisty mGlu2/3 LY379268 na behaviorální charakteristiky (lokomoci a PPI) a kvantitativní EEG po aplikaci ketaminu.

Hypotézy v druhé studii zněly následovně: 1/ ketamin způsobí změny v chování v testu otevřeného pole, PPI a v kvantitativním EEG, 2/tyto změny budou normalizovány agonistou LY379268.

Ve třetí preklinické studii (Páleníček et al, 2013) jsme se pokusili charakterizovat serotonergní model psychózy pomocí behaviorálních, neurochemických a EEG změn. K modelaci jsme použili látku 4-bromo-2,5-dimetoxyfenyletylaminu (2C-B), která patří do skupiny derivátů fenyletylaminu, vyznačující se psychedelickými a entaktogenními účinky na člověka (Shulgin and Carter 1975). O 2C-B je známo, že parciálně agonizuje serotoninové 5-HT2A/C a 5-HT1A receptory (Acuna-Castillo et al, 2002; Villalobos et al, 2004). Kromě jedné behaviorální studie na kuřatech (Bronson et al. 1995), nebyl ve vědecké literatuře dostatek informací o mechanismu účinku 2C-B a jeho vlivu na chování. Proto jsme se v naší práci zabývali zejména behaviorálními testy a poté hodnotili vliv 2C-B v kvantitativním EEG (EEG spektra a koherence). Dále jsme měřili hladiny dopaminu a jeho metabolitů v medioventrální (shell neboli plášť, účastní se procesů emocí, motivací, závislosti) a laterodorsální (core neboli dřeň, účast na lokomoci a senzorimotorického zpracování informací) části nucleus accumbens (NAc) (Deutch a Cameron 1992). Jako dopaminergní model a zároveň referenční látka sloužil v našem pokusu amfetamin, který se svojí strukturou podobá 2C-B a který nám umožňuje rozlišit halucinogenní účinky (mediované zejména serotonergním systémem) od stimulačních účinků (mediované dopaminergním systémem). Hypotézy třetí studie zněly následovně: 1/ 2C-B povede ke změnám v lokomoci v testu otevřeného pole, 2/ 2C-B způsobí deficit v testu PPI ASR, 3/ 2C-B ovlivní EEG výkon a vyvolá změny ve funkční konektivitě mozku a 4/ 2C-B ovlivní metabolismus dopaminu.

Ve všech zmíněných studiích jsem se v rámci postgraduálního studia účastnila behaviorálních pokusů (lokomoce, PPI ASR), dále jsem prováděla všechny operační techniky (tj. implantace elektrod v rámci EEG, implantace mikrodialyzační proby). Behaviorální a EEG záznamy byly následně mnou zpracovány do výsledné publikační formy (použitím programů Wavefinder a Neuroguide). V neposlední řadě jsem prováděla farmakokinetické pokusy – tj. dekapitace a následný odběr krve potkanů. V mikrodialyzačním pokusu jsem kromě zmíněných operací prováděla celkovou přípravu na pokus, dále v příslušný den odběr vzorků dialyzátů a následné odebrání mozkové tkáně.

V rámci postgraduálního studia jsem se taktéž naučila měřit humánní PPI ASR a taktéž hodnotit EEG u psychiatrických pacientů.

5. Metodika studií

V této části bude shrnuta metodika behaviorálních testů, kinetiky, mikrodialýzy a qEEG použité v našich experimentech. Podrobné detaily lze nalézt v přiložených publikacích (Páleníček et al, 2011; Páleníček et al, 2013; Fujákova et al, 2014). Ve všech experimentech jsme použili dospělé potkaní samce kmene Wistar o hmotnosti 200-350 g. Potkani byli před pokusy ustájeni v plastových boxech v místnosti s regulovanou teplotou (21-24ºC), vlhkostí (40 %), s dvanáctihodinovým cyklem světlo/tma (6-18h) a s neomezeným přístupem k vodě a potravě. Zvířata byla nerušeně ustájena v boxech minimálně 5 dní před začátkem experimentů. Veškeré experimenty byly prováděny během dne (tj. během denního světla, mezi 7 až max 14 h) a každý potkan byl testován pouze jednou. V behaviorálních pokusech bylo použito 9-11 zvířat ve skupině, v EEG experimentech 10-12 zvířat, pro mikrodialýzu bylo použito 7 zvířat a pro farmakokinetika 7-9 zvířat ve skupině. Všechny experimenty byly řádně schváleny odbornou komisí pro práci s laboratorními zvířaty při 3. lékařské fakultě University Karlovy a odbornou komisí Psychiatrického centra Praha. Pokusy byly taktéž provedeny v souladu s platnou EU legislativou na ochranu zvířat proti týrání (Guidelines of the European Union 86/609/EU).

5.1 Látky

V glutamátergním modelu (tj. v první studii od Páleníček et al, 2011 a druhé od Fujáková et al, 2014) jsme použili k indukci psychózy založené na hyperglutamátergním stavu racemickou formu hydrochloridu ketaminu, který byl ředěn ve fyziologickém roztoku do adekvátní koncentrace. Ketamin byl aplikován intraperitoneálně (i.p.) v objemu 2 ml/kg. V behaviorálních pokusech u obou studiích byly použity dvě dávky - 9 a 30 mg/kg aplikované vždy 5 minut před začátkem experimentu. Ve farmakokinetickém experimentu byla použita pouze vyšší dávka. V kvantitativním EEG se použili v první studii obě dvě dávky ketaminu (tj. 9 a 30 mg/kg) a v druhé studii pouze vyšší dávku ketaminu (tj. 30 mg/kg). K testování potencionálního antipsychotického účinku byl použit selektivní mGlu2/3 agonista LY379268 ((-)-2 oxa-4-aminobicyklo [3.1.0] hexan-2, 6-dikarboxylová kyselina), rozpuštěný ve 0,9% fyziologickém roztoku a aplikovaný i.p.. Na základě literatury (Galici et al, 2005; Imre et al, 2006) byla zvolena dávka 3 mg/kg. Tato dávka je účinná jak v behavioráloních, tak elektrofyziologických pokusech.

V serotonergním modelu (tj. třetí studii od Páleníček et al, 2013) jsme použili k indukci psychózy látku 2C-B hydrochlorid naředěnou v 0,9% roztoku NaCl a aplikovanou

subkutánně (s.c.) v objemu 2 ml/kg. Behaviorálně jsme testovali 4 dávky 2C-B: 2,5 mg/kg, 10 mg/kg, 25 mg/kg a 50 mg/kg aplikované buď 15 min (začátek působení látky) nebo 60 min (nejvyšší mozková koncentrace) před začátkem měření. V qEEG pokusech se použily dávky 10 mg/kg a 50 mg/kg a v mikrodialyzační studii pouze dávka 25 mg/kg. V dopaminergním modelu se použil amfetamin sulfát (Sigma-Aldrich) naředěný v 0,9% roztoku NaCl byl aplikován s.c. v objemu 2 ml/kg a dávce 1 mg/kg nebo 4 mg/kg. V behaviorálních experimentech byl amfetamin aplikován 15 minut před začátkem měření a v EEG experimentech byla použita jen vyšší dávka.

Ve všech experimentech byl kontrolním zvířatům aplikován fyziologický roztok (tzv. vehikulum).

5.2 Behaviorální pokusy

5.2.1 Lokomoční aktivita v testu otevřeného pole

Lokomoční aktivitu jsme měřili ve všech 3 studiích. Test otevřeného pole se skládá z černé čtvercové plastové arény o rozměrech 68 x 68 x 30 cm, která je umístěna ve zvukotěsné a rovnoměrně osvícené místnosti. Samotný pokus probíhá tím, že jsou potkani po aplikaci látky umístěni doprostřed arény. Pomocí automatického nahrávacího systému EthoVision Color Pro v. 3.1.1 (Noldus) je následných 30 minut je registrována lokomoční aktivita (délka trajektorie) a její prostorová charakteristika (thigmotaxe a čas strávený v centru arény). Program Ethovision je schopný analyzovat aktivitu zvířete i v pětiminutových intervalech a taktéž prostorovou charakteristiku pohybu. Pro prostorovou charakteristiku je aréna virtuálně rozdělena na 5 x 5 stejně velkých čtverců, kde 16 čtverců je periferních a 9 centrálních. Program je schopný spočítat jak frekvenci (f) vstupu potkana do každé zóny, tak vypočítat thigmotaxi (i) podle vzorce:

$$i = f_{periferní\ zóny} / f_{všechny\ zóny}$$

Hodnota thigmotaxe od 0 do 1 ukazuje pravděpodobnost výskytu potkana v periferní zóně arény – tj. 0 nulová pravděpodobnost, 1 vysoká pravděpodobnost. Jiným parametrem je čas strávený v centru arény (Tcentre), který shrnuje čas strávený v devíti centrálních zónách. Hodnota thigmotaxe nám může přinést poznatky o expoloračním chování a může být asociována např. s úzkostí (Páleníček et al 2005; 2007; 2008)

V první studii byli potkani umístěni doprostřed arény 5 minut po aplikaci ketaminu 9 nebo 30 mg/kg (Páleníček et al, 2011), v druhé studii byli potkani umístěny do arény 5 min po ketaminu a 15 minut po aplikaci LY379268 (Fujakova et al, 2014). V třetí studii byli potkani umístěni doprostřed arény 15 nebo 60 minut po aplikaci 2C-B a 15 minut po aplikaci amfetaminu (Páleníček et al, 2013).

5.2.2 Akustická úleková reakce (ASR) a prepulsní inhibice akustické úlekové reakce (PPI ASR)

Testy ASR a PPI ASR byly použity ve všech 3 studiích a dané látky byly aplikované stejným způsobem jako v pokusech s lokomoční aktivitou (Páleníček et al, 2011; Páleníček et al, 2013; Fujakova et al, 2014).

Úleková reakce a prepulzní inhibice akustické úlekové reakce se měřila v tzv. úlekových komorách od firmy SRLAB (San Diego Instruments). Každá komora je ventilovaná, osvětlená a obsahuje průhledný válec o vnitřním průměru 8,7 cm, který je pevně fixovaný na piezoelektrickém akcelerátoru snímajícím úlek a jeho amplitudu. 24 cm nad válcem je umístěn vysokofrekvenční reproduktor produkující kontinuální šum pozadí (75 dB) a další akustické stimuly.

Samotný experiment začíná aklimatizační periodou (5 min), kde je prezentován pouze šum pozadí. Tento kontinuální šum přetrvává po zbytek experimentu. Po aklimatizační době začíná první test čtyřmi iniciačními úlekovými stimuly (125 dB). Potom následuje druhý test, kde jsou použity různé intenzity stimulů o různé trvání v pseudonáhodném pořadí. V našich experimentech se použily v druhém testu následující schémata: 1) samotný pulz - 125 dB, trvání 20 ms; 2) prepulz-pulz - 13 dB nad intenzitou pozadí, trvání 20 ms, prezentovaný 100 ms před začátkem samotného pulzu; 3) samotný prepulz - 13 dB nad intenzitou pozadí, trvání 20 ms; 4) bez stimulu. Během měření se každé schéma pětkrát opakuje s 30ti sekundovým průměrným intervalem mezi jednotlivými schématy. Celé měření obsahuje cca 24 schémat a trvá cca 17 minut.

PPI ASR se následně počítá jako procentuální podíl PPI:

100 - (průměrná ASR na prepulz-pulz podněty / ASR na samostatné pulzy) x 100

Do počítání PPI se nazahrnuje první test s čtyřmi iniciačními úlekovými stimuly a průměrná amplituda ASR, která je menší než 10 mikroV (tzv. non-respondéři).

5.3 EEG experiment

5.3.1 Implantace elektrod

Sedm dní před registrací EEG bylo potkanům v celkové isofluroanové/halothanové anestézii stereotakticky implantováno 14 stříbrných elektrod (12 aktivních + referenční + zemnící). Elektrody byly implantovány na povrch kortexu nad frontální, parietální a temporální oblast a připevněny pomocí zubního cementu. Stereotaktické koordináty byly převzaty ze stereotaktického atlasu The Rat Brain (Paxinos and Watson 2007) a zahrnovaly následující polohy (*Obrázek 1*):

- frontální asociační kortex (F3/4): 5,0 mm anteriorně, ±2,0 mm laterálně od bregmy

- primární motorický kortex (C3/4): 2,2 mm anteriorně, ±3,2 mm laterálně od bregmy

- parietální asociační kortex (P3/4): 3,8 mm posteriorně, ±2,5 mm laterálně od bregmy

- parietální asociační kortex (P5/6): 4,5 mm posteriorně, ±4,5 mm laterálně od bregmy

- spánkový asociační kortex (T3/4):3,6 mm posteriorně, ±7,2mm laterálně od bregmy

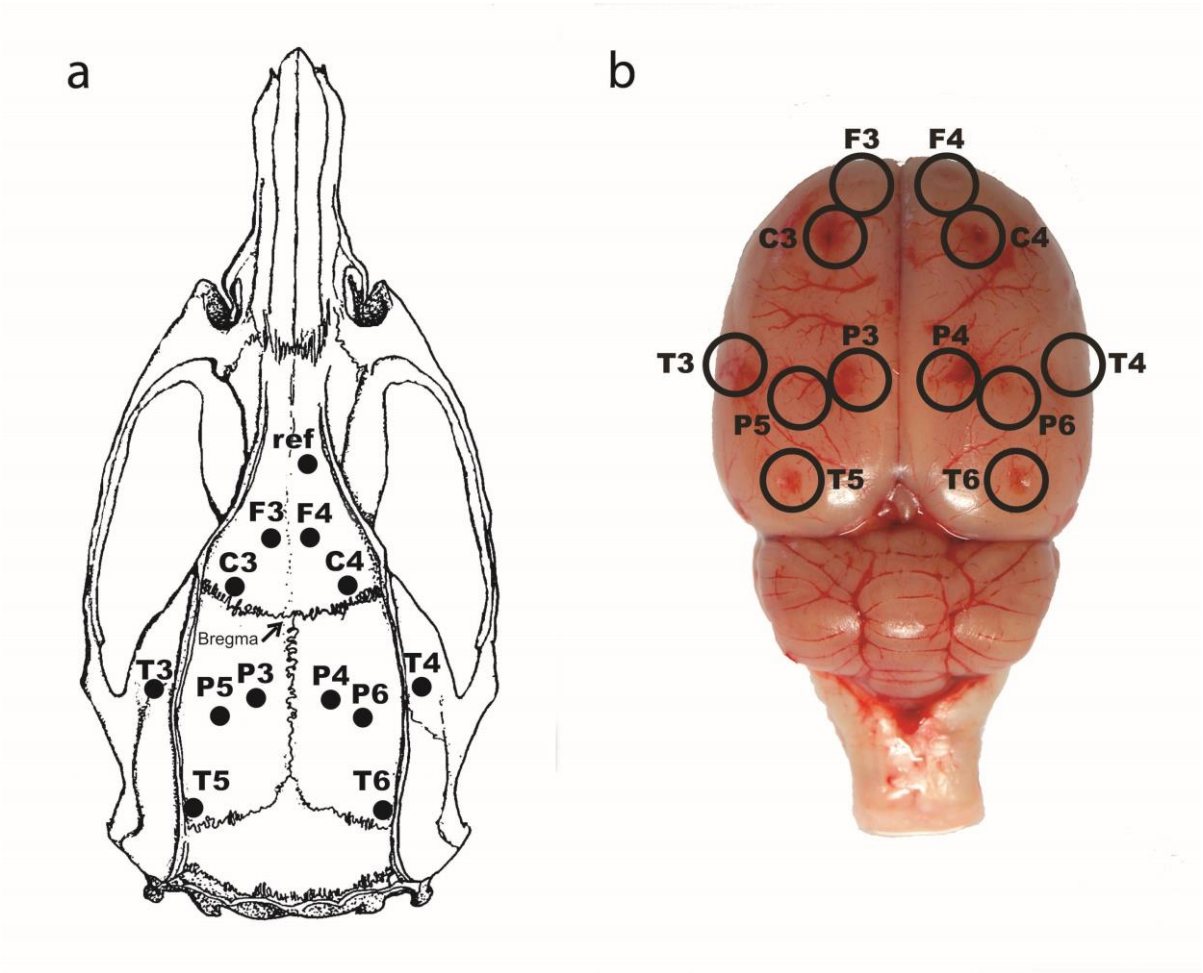
- sekundární sluchový kortex (T5/6):8,8 mm posteriorně, ±5,8 mm laterálně od bregmy

- referenční elektroda (REF): subdurální lokalizace nad čichový lalok

- zemnící elektroda (GND): subkutánní implantace nad okcipitální oblast

Po operaci byla zvířata umístěna individuálně do plastových akvárií, kde setrvala až do dne registrace (tj. 7 dní). Jeden den před zahájením EEG registrace byl k elektrodám v krátkodobé isofluranové anestézii (10 min) připojen konektor k registračnímu setu a zafixován pomocí dentálního cementu.

Obrázek č. 1. Lokalizace elektrod na povrchu kalvy potkana (a) a na povrchu kortexu (b). Pro přesné umístění viz text.



5.3.2 Nahrávání EEG

V den EEG pokusu byli potkani zapojeni pomocí kabelu k digitálnímu zesilovači (BrainScope, Unimedis, Praha). Nahrávání trvalo celkem 75-100 minut a během registrace se mohli potkani volně pohybovat po svém akváriu (boxu). Po 10 minutovém klidovém záznamu byla potkanům aplikována látka – v našem případě ketamin nebo 2C-B. V případě registrace dvou látek (Fujakova et al, 2014) byl nejdřív administrován agonista LY379268 a teprve 10 minut poté ketamin. Pouze u studie od Fujáková et al, 2014 bylo po celou dobu registrace u potkanů zaznamenáváno chování programem Activities, kde aktivní chování zahrnovalo běhání, chození, čištění, lezení na stěnu akvária, stereotypie, třepání hlavou apod. a pasivní se skládalo z jiných, drobných aktivit/inaktivit (např. imobilita, čenichání bez pohybu těla, malé pohyby hlavou). U všech studií byli, při podezření na spánek, potkani buzeni jemným taktilním nebo akustickým stimulem (hlazení, řeč). V případě použití programu Activities byly následně analyzovány úseky odpovídající jak pasivnímu, tak aktivnímu chování.

5.3.3 Analýza EEG signálu

Samotná aplikace látek stejně i úseky během např. spaní a buzení, odmotávání EEG konektoru (např. po amfetaminu) byly vyřazeny z analýzy. Pomocí programu WaveFinder (UniMedis) se byly odděleny úseky aktivního a pasivního chování. Během oddělování úseků byl použit příslušný FIR (Finite Impulse Response) filtr. Úseky odpovídající pasivnímu/aktivnímu chování byly následně převedeny do softwaru Neuroguide v.2.4.6 (Applied Neuroscience Inc.).

Vlastní analýza zahrnovala porovnávání 2 úseků v rámci jednoho zvířete – tj. úsek před aplikací látky (tzv. kontrolní úsek, prvních 10 minut) a úsek po aplikaci látky/látek (tj. zbývajících 65 minut (2C-B 10 nebo 50 mg/kg), 35 minut (amfetamin 4 mg/kg) nebo 90 minut (ketamin, LY379268)). V každém úseku bylo pečlivě visuálně selektováno několik epoch nejvíc odpovídající dané situaci. Vybrané epochy musely být čisté od artefaktů, s minimální délkou 30 sekund a maximální délkou 3 minuty. Výběr úseků po aplikaci ketaminu odpovídal jeho vrcholu účinku, který je 10-20 min po i.p. administraci (Palenicek et al, 2011). Vzhledem k tomu, že agonista LY379268 byl administrován po kontrolním úseku a až za 10 minut ketamin, všechny analýzy včetně samotného LY379268 i kontrolních zvířat tedy probíhaly 30-40 minut od začátku experimentu. Jinak tomu bylo u experimentu s 2C-B a amfetaminem. Zde bylo po aplikaci látek (tj. po 10 minutovém kontrolním záznamu, baseline) vybráno k analýze několik dalších časových úseků – 15-25 min (pro vehikulum a 2C-B), 10-20 minut (amfetamin), 25-35 min (vehikulum a amfetamin) a 55-65 min (vehikulum a 2C-B).

Po pečlivém výběru reprezentativních úseků prošla data rychlou Fourierovou transformací (FFT). Z každého analyzovaného úseku se následně vypočítaly absolutní a relativní výkonové spektra mezi 1 a 40 Hz s rozlišením 0,5 Hz. Výkonové spektra jednotlivých elektrod a elektrodových párů byly vypočítány v následujících frekvenčních pásmech: delta (1-4 Hz), theta (4-7 Hz), alfa (8-12 Hz), beta (12-25 Hz), vysoká beta (25-30 Hz) a nízká gamma (30-40 Hz). EEG koherence tj. kvantitativní měření shody mezi dvěma EEG signály naměřenými nad různými oblastmi mozku, se vypočítaly jako odmocnina cross-spektra dělená výsledkem dvou auto-spekter pro 30 intrahemisferálních elektrodových párů (F3-C3, F3-P3, F3-P5, F3-T3, F3-T5, C3-P3, C3-P5, C3-T3, C3-T5, P3-P5, P3-T3, P3-T5, P5-T3, P5-T5, T3-T5 na levé hemisféře a analogicky na pravé) a 6 inter-hemisferálních elektrodových párů (F3-F4, C3-C4, P3-P4, P5-P6, T3-T4, T5-T6).

5.4 Mikrodialyzační experiment (pouze serotonergní model)

5.4.1 Implantace elektrod

Sedm dní před vlastní mikrodialýzou byla potkanům v celkové halothanové anestézii zavedena vodící kanyla. Poloha kanyly se určila pomocí stereotaktického atlasu (Paxinos and Watson 2007) a pro nucleus accumbens shell byla určena jako 1,2 mm anteriorně, 2,0 mm laterálně a -6,0 mm vertikálně od bregmy a pro nukleus accumbens core jako 2,0 mm anteriorně, 1,2 mm laterálně a -6,2 mm vertikálně od bregmy. Vodící kanyla byla zafixována dentálním cementem. Zvířata byla poté uložena do vlastních klecí a ponechána týden na regeneraci.

5.4.2 Sběr vzorků a analýza

V den experimentu byl každý potkan uspán pomocí mírné isofluranové anestézie. Poté mu byl z vodící kynyly odebrán kryt a opatrně zavedena dialyzační proba. Proby byly následně zapojeny na dialyzační set napojený na injekční pumpy obsahující umělou cerebrospinální tekutinu (ACSF). Po napojení všech potkanů se daná oblast 60 minut proplachovala s 20 minutovým sbíráním dialyzátů do vialek obsahujících 15 μl 0,1 M kyseliny chlorovodíkové (zabraňuje dekompozici analytů). Po 60 minutách byla aplikována látka – v našem případě 2C-B 25 mg/kg s.c. - a následně bylo odebráno u každého zvířete 12 vzorků (opět s 20ti minutovými intervaly). Po skončení odběru vzorků byli potkani usmrceni celkovou anestézií a jejich mozky fixovány v 10% formalínu pro pozdější zpracování. K určení správné polohy mikrodialyzační proby byly mozky nakrájeny na tloušťku 40 μm a obarveny pomocí Nisslova barvení.

Pomocí kapalinové chromatografie - hmotnostní spektrometrie (LC-MS) byla změřena hladina dopaminu a jeho metabolitů - kyseliny homovanilové (HVA), 3-metoxytyraminu (3-MT) a kyseliny 3,4-dihydroxyfenyloctové (DOPAC). Podrobně je tato technika popsána v publikaci Syslova et al. 2011.

5.5 Farmakokinetika (pouze glutamátergní model)

V kinetických studiích byla potkanům intraperitoneálně aplikována jedna dávka ketaminu 30 mg/kg a následně bylo potkanům odebráno sérum a mozková tkáň v intervalech 5, 10, 20, 30, 60, 120 a 240 minut po aplikaci. Separované vzorky séra a mozky byly následně uchovány v -20ºC pro toxikologickou analýzu pomocí plynové chromatografie - hmotnostní spektrometrie (GC-MS).

6. Statistika

6.1 Behaviorální pokusy a farmakokinetika

Výsledky behaviorálních experimentů byly statisticky zpracovány v programu Sigmastat v. 3.0 a Statistica v. 9.0. Dvoucestná (two-way ANOVA) nebo jednocestná (one-way ANOVA) analýza rozptylu s následným Student-Newman-Keuls event. Bonferroni post hoc testem byla použita v analýze celkové lokomoce a PPI ASR. K analýze behaviorálních změn vyvolaných amfetaminem byla použita jednocestná analýza rozptylu (one-way ANOVA). V případě lokomoce s 5-min intervaly byla použita dvojcestná analýza rozptylu s opakovanými měřeními (repeated measures, RM ANOVA), kde dávka látky byla faktor mezi subjekty a časový interval jako faktor opakovaného měření. Poté byla použita one-way RM ANOVA pro jednotlivé skupiny. Hladina významnosti byla v behaviorálních experimentech a ve farmakokinetice určena na $p<0,05$.

6.2 EEG experiment

Vzhledem k tomu, že EEG záznam vykazuje velkou variabilitu mezi jedinci, ale vysokou stabilitu u jednotlivého subjektu, byly data nejdřív analyzovány párovým T-testem, kde každý potkan sloužil sám sobě jako kontrola. Tudíž data před aplikací látky tj. prvních 10 minut záznamu byla porovnávána s daty po aplikaci látky tj. z dalších vybraných úseků. U studie s ketaminem a LY379268 (Fujakova et al, 2014) bylo určení rozdílů mezi skupinami ve výkonových spektrech navíc analyzováno pomocí ANCOVY s post hoc Student-Newman-Keuls testem, kde léčba sloužila jako faktor mezi subjekty a záznam před aplikací jako kovariáta (Statistica v. 9.0). V předchozích studiích (Páleníček et al, 2011, Páleníček et al, 2013) byla analýza výkonového spektra pro každé frekvenční pásmo počítána použitím one-way RM ANOVA s post hoc Student-Newman-Keuls testem. Průměrný spektrální výkon byl vypočítán z individuálních hodnot jednotlivých elektrod každého zvířete a statisticky analyzován párovým t-testem (SigmaStat v. 3.0).

Statistická analýza EEG koherencí byla počítána pomocí párového T-testu v programu Neuroguide v. 2.4.6 (modul Neurostat). Tento program vypočítal analýzu koherencí pro 65 párů elektrod, v této práci a v publikacích jsou však prezentovány jenom intra-hemisferální a homologní inter-hemisferální páry. Hladina významnosti byla v EEG experimentech určena na $p<0,05$.

6.3 Mikrodialýza

Vzhledem k nedostatečnému počtu zvířat ve skupinách NAc shell a NAc core se data sloučila a analyzovala společně (Statistica v. 9.0). Analýza hladin dopaminu a jeho metabolitů byla počítána pomocí Friedmanovy RM analýzy rozptylu (RM ANOVA) s post hoc Wilcoxonovým párovým testem, kde čas sběru vzorků sloužil jako faktor opakovaného měření. Hladina významnosti byla opět stanovena na $p<0,05$.

7. Výsledky studie

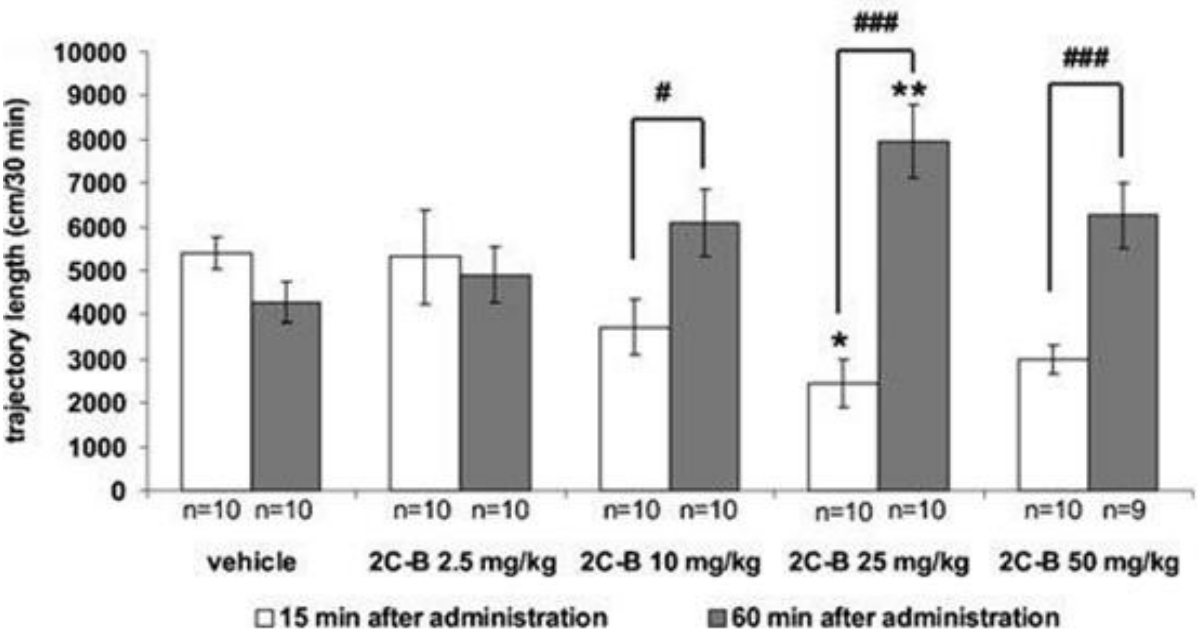
7.1 Lokomoční aktivita v testu otevřeného pole

7.1.1 Serotonergní model s 2C-B

7.1.1.1 Celková lokomoce

Výsledky celkové lokomoce v testu two-way ANOVA jsou zobrazeny v tabulce 2. Z post hoc testů vyplynulo, že pouze aplikace 2C-B 25 mg/kg 15 minut před začátkem testování způsobila pokles v lokomoci. Trend v poklesu lokomoce byl zaznamenán i u dávky 2C-B 50 mg/kg ($p=0,06$). Ostatní dávky se významně nelišily od kontrolní skupiny. Aplikace 2C-B 60 minut před měřením zvyšovala lokomoční aktivitu pouze po dávce 25 mg/kg ($p<0,01$). Ostatní skupiny se od kontrol taktéž nelišily. Při porovnání obou časových experimentů se ukázalo, že 2C-B 10, 25 a 50 mg/kg mají celkově delší uběhnutou dráhu za 60 minut od počátku aplikace ($p<0,05$ - $p<0,001$) (*Obrázek 2*).

Obrázek č.2 Lokomoce po aplikaci 2C-B. Délka trajektorie je v cm. Zobrazeny průměry ± SEM (* $p<0,05$; ** $p<0,01$ od kontrolní skupiny; # $p<0,05$; ### $p<0,001$ mezi časovými intervaly).



Tabulka 2. Hodnoty two-way ANOVY v behaviorálním testu lokomoce po aplikaci 2C-B.

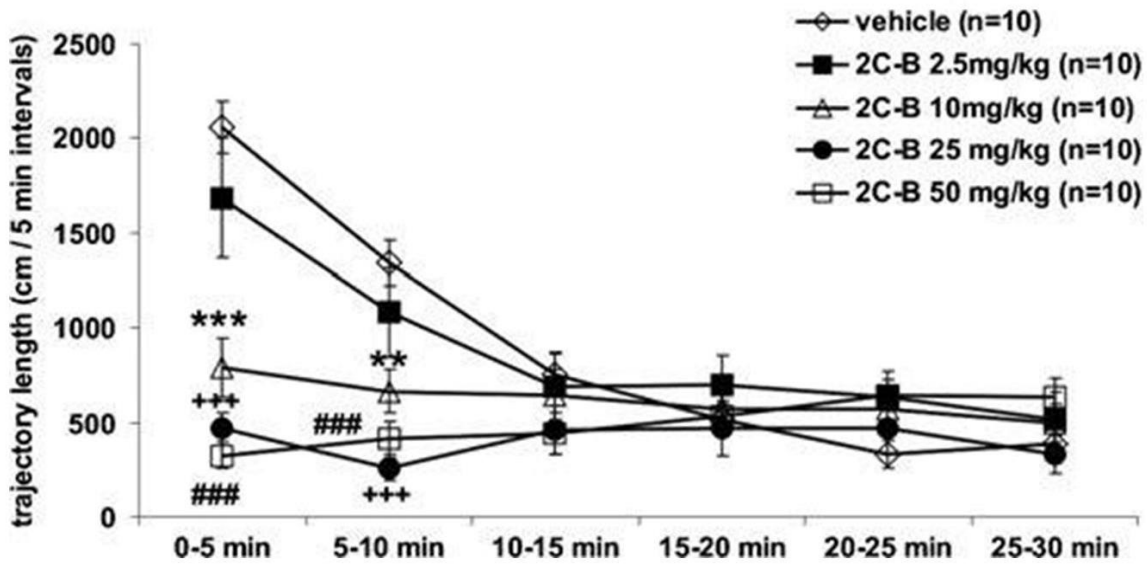
	čas	**dávka**	**dávka x čas**
Lokomoční aktivita	(F(1,89)=20,24; p<0,001	F(4,89)=0,23; p=0,92	F(4, 89))=8,15; p<0,001
5 min intervaly 15 min před	F(5,225)=30,32; p<0,001	F(4,225)=4,26; p<0,01	F(20,225)=14,13; p<0,001
5 min intervaly 60 min před	F(5,220)=103,07; p<0,001	F(4,220)=4,14; p<0,01	F(20,220)=3,54; p<0,001
thigmotaxe	F(1,89)=2,17; p=0,14	F(4,89)=0,99; p=0,42	F(4,89)=1,42; p=0,23
čas strávený v centru arény	F(1,89)=2,17; p=0,14	F(4,89)=3,88; p<0,01	F(4,89)=3,36; p<0,05

7.1.1.2 Analýza 5 minutových intervalů – aplikace 2C-B 15 min před začátkem pokusu

Výsledky two-way ANOVY jsou zobrazeny v tabulce 2. Aplikace fyziologického roztoku a 2C-B 2,5 mg/kg významně snížila lokomoci ve všech časových intervalech v porovnání s prvním (0-5 min; p<0.001) a druhým (5-10 min; p<0.01 - p<0.001) časovým intervalem. Fyziologický roztok taktéž zkrátil lokomoci v třetím intervalu (10-15 min) v

porovnání s následujícími ($p<0,01$). 2C-B 10 mg/kg, 25 mg/kg a 50 mg/kg významně zkracovalo trajektorii v prvních 10 minutách od začátku měření (v porovnání s kontrolní skupinou ($p<0,01$ - $p<0,001$)). (*Obrázek 3*).

Obrázek č. 3. Látka 2C-B administrovaná 15 minut před začátkem a její vliv na lokomoci zobrazené v pětiminutových intervalech. Zobrazené hodnoty (délka trajektorie v cm/5 minut) představují průměr ± SEM (** $p<0,01$; *** $p<0,001$ od kontrolní skupiny pro 2C-B 10 mg/kg; +++ $p<0,001$ od kontrolní skupiny pro 2C-B 25 mg/kg; ### $p<0,001$ od kontrolní skupiny pro 2C-B 50 mg/kg).



7.1.1.3 Analýza 5 minutových intervalů – aplikace 2C-B 60 min před začátkem pokusu

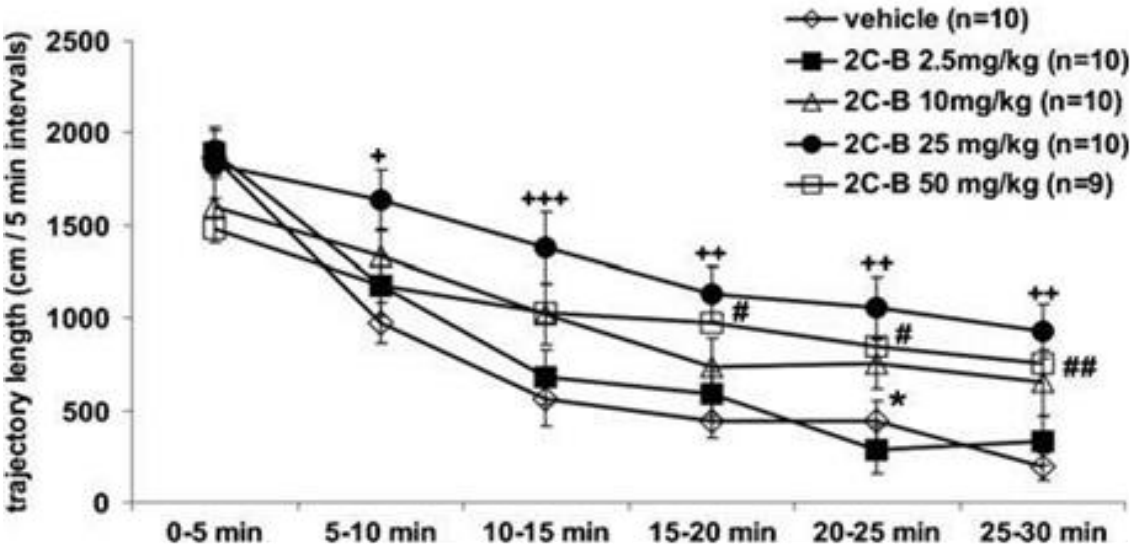
Výsledky two-way ANOVY jsou zobrazeny v tabulce 2. Aplikace fyziologického roztoku a 2C-B 2,5 mg/kg významně snížila lokomoci v druhém a třetím intervalu ($p<0,05$ - $p<0,001$). U dávek 2C-B 10, 25 a 50 mg/kg docházelo k méně výraznému zkracování lokomoce oproti dávce 2,5 mg/kg, toto zkracování však bylo menší než u potkanů s aplikací 15 min před začátkem pokusu. Potkani s aplikovaným 2C-B 10, 25 a 50 mg/kg měli, na rozdíl od kontrolní skupiny, významně delší trajektorii od třetího intervalu po konec meření. (*Obrázek 4.)*

Obrázek č. 4. Látka 2C-B administrovaná 60 minut před začátkem měření a její vliv na lokomoci měřené v pětiminutových intervalech. Hodnoty (délka trajektorie v cm/5 minut) představují průměr ± SEM (* $p<0,05$ od kontrolní skupiny pro 2C-B 10 mg/kg; + $p<0,05$; ++

p<0,01; +++ p<0,001 od kontrolní skupiny pro 2C-B 25 mg/kg; # p<0,05; ## p<0,01 od kontrolní skupiny pro 2C-B 50 mg/kg).

7.1.1.4 Thigmotaxe (i) a čas strávený v centru arény (Tcentre)

Výsledky two-way ANOVY pro oba dva testy jsou zobrazeny v tabulce 2. Z testů vyplývá, že 2C-B nemělo žádný vliv na thigmotaxi. Látka 2C-B v dávce 50 mg/kg aplikovaná 15 minut před začátkem pokusu zvýšila čas strávený v centru arény (vehikulum 68,8 s vs. 2C-B 282,4 s; p<0,001). Žádné jiné dávky ani čas aplikace neměl vliv na čas strávený v centru arény.



7.1.2 Glutamátergní model s ketaminem

7.1.2.1 Celková lokomoce

Samotná administrace ketaminu významně zvyšovala celkovou lokomoci potkanů [F(2, 26) = 16,747; p<0.001]. Post hoc testy ukázaly, že pouze dávka 30 mg/kg významně zvýšila lokomoci (p<0,05), nižší dávka ketaminu 9 mg/kg neměla vliv na lokomoci. (*Obrázek 6.*)

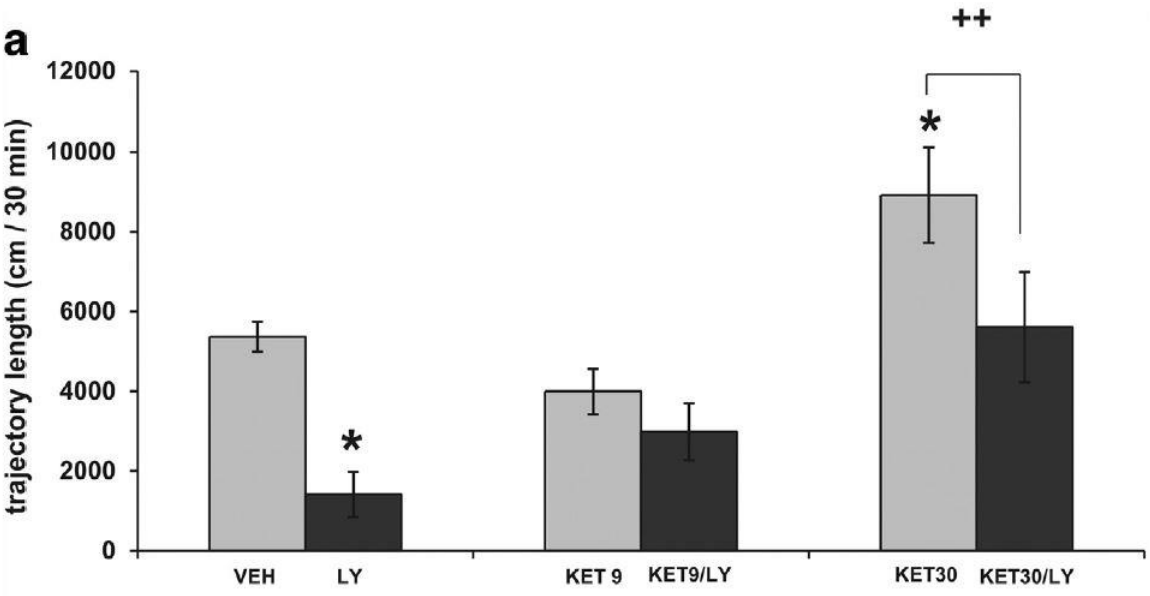
Výsledky two-way ANOVY celkové lokomoce kombinace ketaminu 30 mg/kg a LY3792686 3 mg/kg jsou zobrazeny v tabulce 3. Stejně jako v předchozím pokusu pouze

ketamin v dávce 30 mg/kg významně zvyšoval celkovou uběhnutou dráhu ($p<0.05$). Na druhou stranu samotná aplikace LY379268 3 mg/kg snížila lokomoci zvířat ($p<0.05$). V kombinaci obou látek, LY379268 3 mg/kg snížil hyperlokomoci po dávce ketaminu 30 mg/kg ($p<0.01$).

Tabulka 3. Výsledky two-way ANOVY lokomoční aktivity ketaminu 30 mg/kg a LY3792686 3 mg/kg.

	ketamin	LY379268	ketamin x LY379268
lokomoční aktivita	F(2,54) = 12.648, p<0.001	F(1,54) = 14.808, p<0.001	F(2,54) = 1.553, P=0.221
	léčba	čas	léčba x čas
thigmotaxe - 2 way RM ANOVA	F(2, 173) = 19.341; p 0,001	F(5, 173) = 14.516; p ! 0.001	F(10, 173) = 2.369; p = 0,013

Obrázek č. 6. Vliv ketaminu 30 mg/kg a agonisty LY379268 3 mg/kg v testu otevřeného pole. Hodnoty (délka trajektorie v cm/30 minut) představují průměr ± SEM (* $p<0,05$ od kontrolní skupiny pro samotný LY379268 a ketamin 30 mg/kg. ++ $p<0,01$ mezi ketaminem a kombinací ketamin/LY379268).

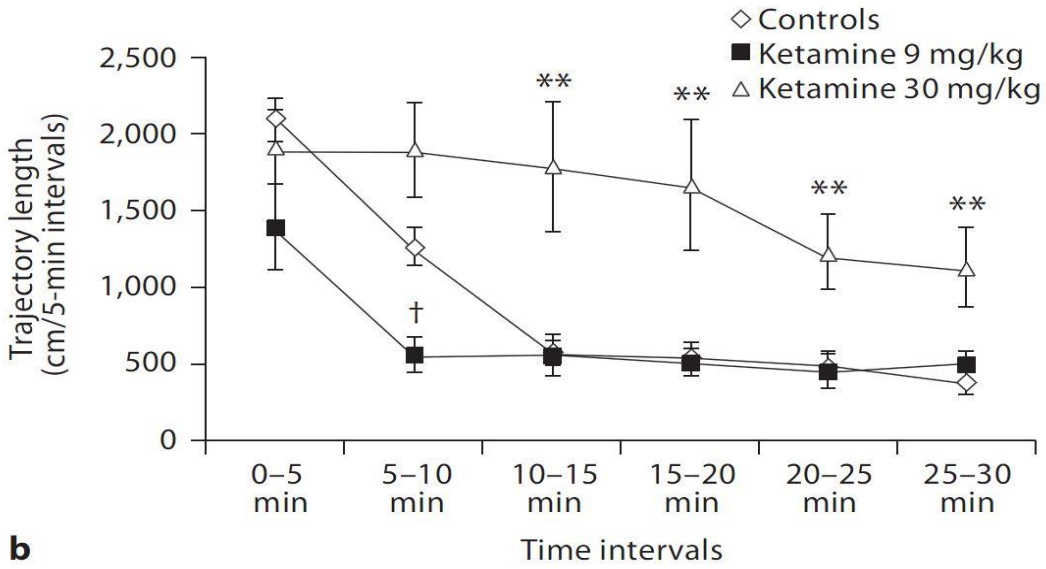


7.1.2.2 Analýza 5 minutových intervalů

Analýza pěti minutových intervalů pomocí two-way ANOVY ukázala účinek léčby [$F(2, 173) = 19,341$; $p < 0,001$], času [$F(5, 173) = 14,516$; $p < 0,001$] a interakce času x léčby [$F(10, 173) = 2,369$; $p < 0,013$]. Následná one-way RM ANOVA ukázala účinek času u kontrolních zvířat [$F(5, 45) = 53,557$; $p < 0,001$] a u zvířat s aplikovaným ketaminem 9 mg/kg [$F(5,45) = 7,796$; $p < 0,001$], ale ne u těch s aplikovaným ketaminem 30 mg/kg [$F(5, 40) =$

1,356; p = 0,261]. Post hoc analýza odhalila, že celková dráha se trvale snižovala u kontrolních zvířat a u zvířat s ketaminem 9 mg/kg (p < 0,001 pro všechny intervaly vs první interval). Na druhou stranu tento účinek nebyl pozorován s ketaminem 30 mg/kg. Následná one-way ANOVA pro účinek léčby ukázal významný efekt léčby ketaminem ve všech intervalech kromě prvního F(2, 26)=11,783; p < 0,001 pro 5-10 min; F(2, 26) = 7,807; p = 0,002 pro 15-20 min; F(2, 26) = 7,797; p = 0,002 pro 15-20 min; F(2, 26) = 8,237; p = 0,002 pro 20-25 min a F(2, 26) = 6,107; p=0,007 pro 25-30 min. Z post hoc analýzy vyplynulo, že ketamin 30 mg/kg významně zvyšoval lokomoci v posledních 4 intervalech (p < 0,01) a ketamin 9 mg/kg mírně snížil lokomoci během druhého intervalu (p < 0,05). (*Obrázek 7.*)

Obrázek č. 7. Ketamin 9 a 30 mg/kg a jejich vliv na lokomoci měřené v pěti minutových intervalech. Hodnoty (délka trajektorie v cm/5 minut) představují průměr ± SEM (** p < 0,01 kontrolní skupina vs ketamin 30 mg/kg; + p < 0,05 kontrolní skupina vs ketamin 9 mg/kg).



7.1.2.3 Thigmotaxe (i) a čas strávený v centru arény (Tcentre)

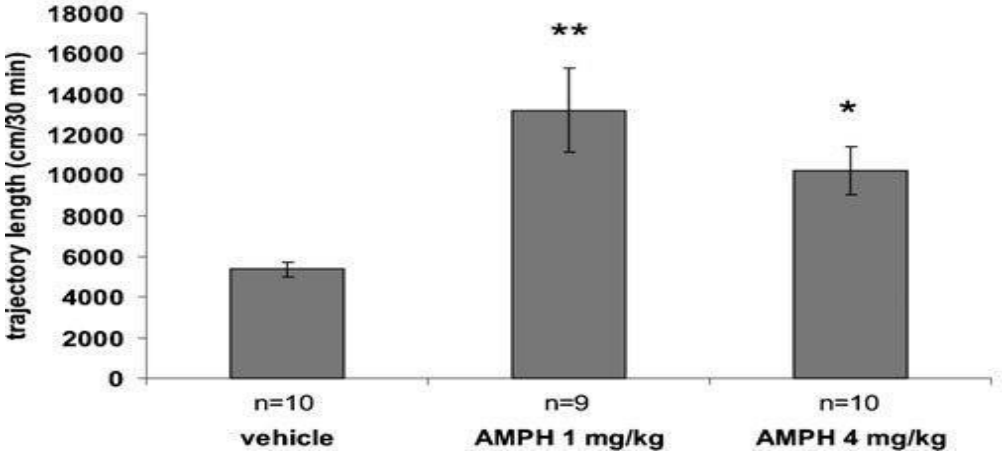
Ketamin v obou dávkách neovlivňoval thigmotaxi [F(2, 26) = 2,414; p = 0,109]. Na druhou stranu měl nepatrný účinek na čas strávený v centru arény [F(2, 26) = 3,466; p = 0,046]. Zatímco ketamin 9 mg/kg lehce snižoval čas strávený v centru arény, ketamin 30 mg/kg tento parametr prodlužoval. Nicméně post hoc analýza neodhalila jakýkoli rozdíl mezi ketaminem v obou dávkách a kontrolní skupinou. Naopak tato analýza ukázala významný účinek mezi ketaminem 9 a 30 mg/kg (p < 0,05).

7.1.3 Dopaminergní model s amfetaminem

7.1.3.1 Celková lokomoce

Amfetamin v obou dávkách významně ovlivňoval lokomoci [F(2, 28) = 8,72; p < 0,001]. V porovnání s kontrolními zvířaty obě dvě dávky amfetaminu významně prodlužovaly délku trajektorie (p < 0,01 - p < 0,001). (*Obrázek 8*.)

Obrázek č. 8. Vliv amfetaminu na lokomoci. Hodnoty (délka trajektorie v cm) představují průměr ± SEM (* p < 0,05; ** p < 0,01 od kontrolní skupiny).



7.2 Akustická úleková reakce (ASR) a prepulsní inhibice akustické úlekové reakce (PPI ASR)

7.2.1 Serotonergní model s 2C-B

Výsledky two-way ANOVY hodnotící parametr ASR jsou zobrazeny v tabulce 5. 2C-B aplikovaný 15 a 60 minut před pokusem významně snižoval ASR (p < 0,05 – p < 0,01 s výjimkou skupiny 2C-B 50 mg/kg testované 60 minut po aplikaci). Skupina s aplikací 15 minut předem měla výraznější efekt.

Tabulka č. 5. 2C-B a jeho vliv na ASR u potkana. Hodnoty představují průměr amplitudy (arbitrární jednotky) ± SEM (* p < 0,05; ** p < 0,01 od kontrolní skupiny).

Čas aplikace	Vehikulum	2C-B			
		2,5 mg/kg	10 mg/kg	25 mg/kg	50 mg/kg
15 min	84,80±7,67	53,78±8,11 *	37,48±7,92 **	44,40±8,47 *	35,54±5,25 **
60 min	103,62±22,51	58,92±8,49 *	60,86±6,33 *	65,80±7,67 *	77,20±11,32

Výsledky two-way ANOVY PPI ASR jsou zobrazeny v tabulce 6. 2C-B v dávkách 10, 25 a 50 mg/kg s aplikací 15 minut před měřením se významně lišila od kontrolních skupin (p

< 0,05 – p < 0,001). 2C-B v dávkách 2,5; 10 a 50 mg/kg s aplikací 60 minut před meřením se taktéž významně lišila od kontrol (p < 0,05 – p < 0,01).

Tabulka č.6. Two-way ANOVA u ASR a PPI ASR během aplikovaného 2C-B.

	dávka	čas	dávka x čas
ASR	F(4,90)=6,22; p<0,001	F(1,90)=11,14; p<0,001	F(1,90)=0,77; p=0,55
PPI ASR	F(4,90)=7,86; p<0,001	F(1,90)=0,027; p=0,87	F(4,90)=0,87; p=0,48

7.2.2 Glutamátergní model s ketaminem

Ketamin v obou dvou dávkách (tj. 9 a 30, mg/kg) neměl vliv na ASR [F(2, 26) = 1,454; p = 0,525]. ASR byla v pokusu s ketaminem a LY379268 významně ovlivněna jak ketaminem [F(2, 53) = 11,526, p < 0,001], tak i LY379268 [F(1, 53) = 11,845; p = 0,001] a byla rovněž přítomná interakce faktorů [F(2, 53) = 4,209; p < 0,05]. Nicméně významné zvýšení úleku v porovnání s kontrolní skupinou se objevilo pouze u zvířat s LY379268 (p < 0,001). (Tabulka 7.)

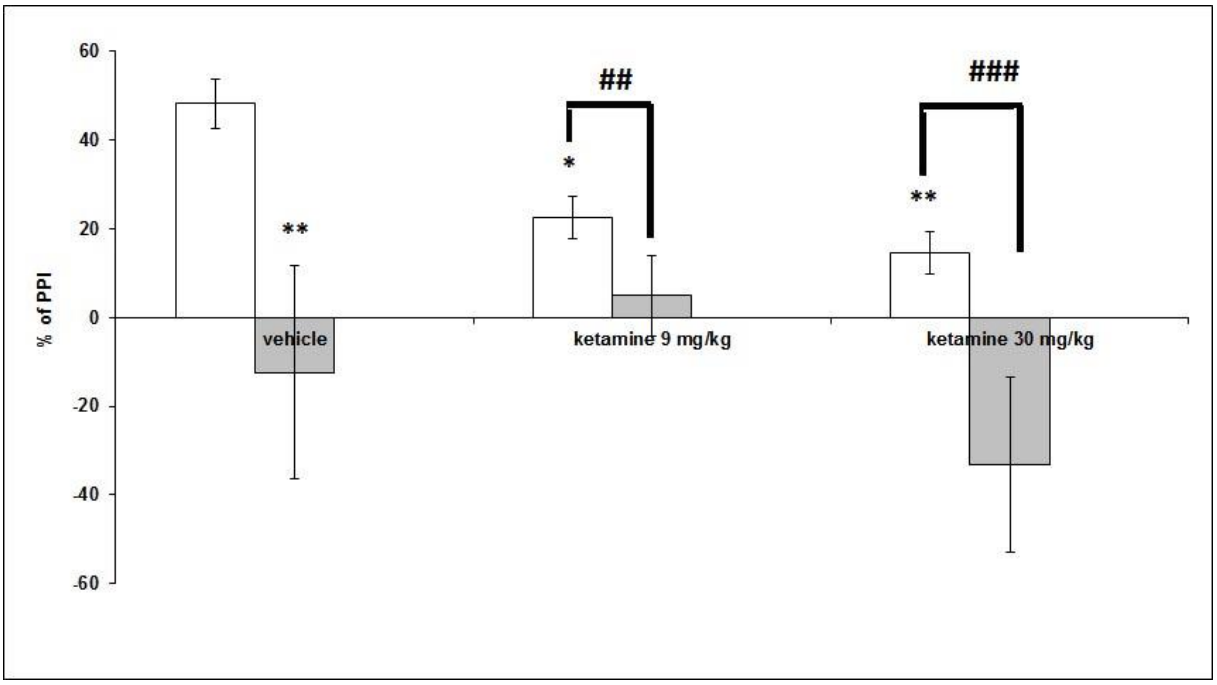
Tabulka č. 7. Vliv ketaminu a LY379268 na amplitudu ASR (ampituda v arbitrárních jednotkách). Ketamin neměl vliv na úlekovou hodnotu, samotné LY379268 ji významně zvyšovalo v porovnání s vehikulem. *** p < 0.001 pro LY379268 vs vehikulum.

ASR amplitude in arbitrary units (+/- SEM)

	vehicle	LY379268 3 mg/kg
vehicle	124.4 (+/- 13.5)	266.2 (+/- 46.9) ***
Ketamine 9 mg/kg	110.6 (+/- 8.4)	187.1 (+/- 37)
Ketamine 30 mg/kg	98.3 (+/- 10.3)	97.72 (+/-15.5)

PPI byla významně snížena ketaminem [F(1,53) = 4,236; p < 0,05] a LY379268 [F(2, 53) = 18,972; p < 0,001]. Obě samostatné dávky ketaminu a samotný LY379268 způsobovaly deficit v PPI (p < 0,05 – p < 0,001). LY379268 nenormalizoval deficit v PPI způsobený ketaminem, naopak ho spíš prohluboval (zejména v kombinaci s dávkou 30 mg/kg) (p < 0,01 – 0,001) (*Obrázek 9*).

Obrázek č. 9. Učinek LY379268 a ketaminu 9 a 30 mg/kg na PPI ASR. Ketamin v oubou dávkách indukoval deficit v PPI, podobně jako samotný LY379268. V kombinaci látek, LY379268 nenormalizoval ketaminem-indukovaný deficit, naopak ho prohluboval. *, ** p < 0,01; resp. 0,001 pro aplikované látky vs vehikulum. ## - ### rozdíly v skupinách.



7.2.3 Dopaminergní model s amfetaminem

Pouze dávka 4 mg/kg významně snižovala ASR [F(2, 27) = 4,75; p < 0,05] a způsobovala deficit v PPI [F(2, 27) = 3,94; p < 0,05].

7.3 EEG experiment

7.3.1 EEG spektra

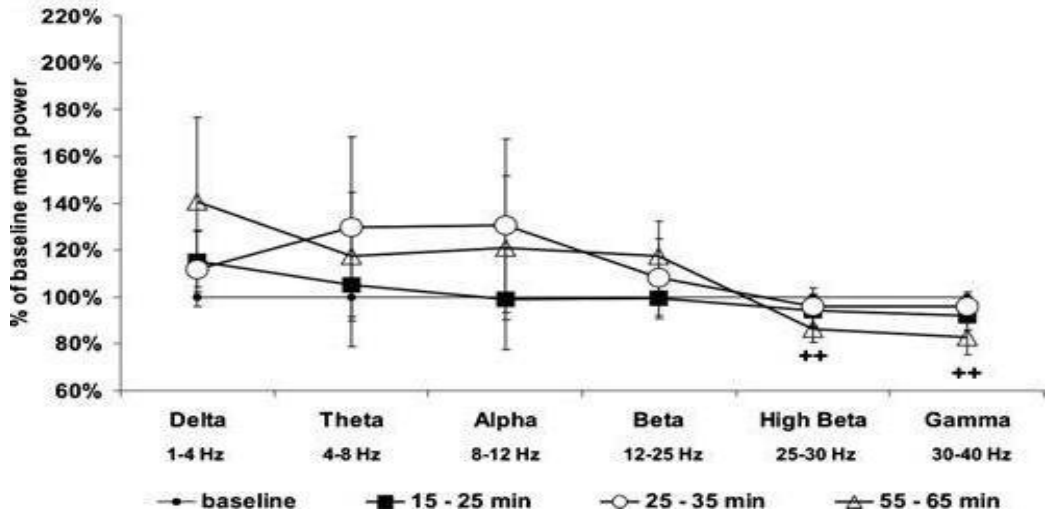
7.3.1.1 Aplikace fyziologického roztoku

Analýza one-way ANOVY ukázala efekt vehikula na vysoká beta [F(3, 27) = 5,07; p < 0,01] a gamma pásmo [F(3, 27) = 4,57; p = 0,01]. V počátečních stádiích pokusu (tj. v 15-25 minutě a 25-35 minutě po aplikaci) nedocházelo k žádným významným změnám v průměrném absolutním výkonu (*obrázek 10*). Stejně tak v analýze úseků korespondujících s behaviorální inaktivitou (tj. mezi 20-30 minutou po aplikaci) se nenašly žádné významné změny v absolutním výkonu (*obrázek 11*). Mírné zvýšení relativního výkonu bylo patrné v tomto časovém úseku v delta pásmu (110%, p < 0,05). V intervalu 55-65 minut po aplikaci

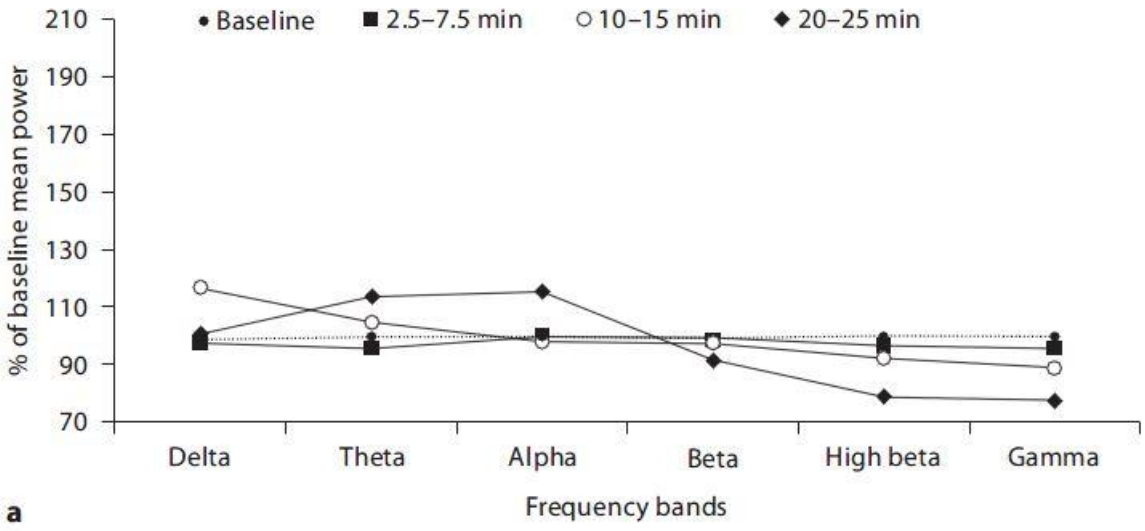
se snížil průměrný absolutní výkon v pásmu vysoká beta (86,5%) nad frontálními a parietálními elektrodami a gamma (82,9%) nad všemi elektrodami ($p < 0,01$).

Behaviorální aktivita zvýšila průměrný výkon ve všech frekvenčních pásmech o 12-54%. Změny byly nejvíc patrné v pásmu theta, alfa, vysoká beta a gamma.

Obrázek č. 10 Výkonová spektra u vehikula (v publikaci s 2C-B). Hodnoty (% změny) představují průměr ± SEM (++ $p < 0,01$ od klidového záznamu 55-65 min po aplikaci).



Obrázek č. 11 Výkonová spektra u vehikula (v publikaci s ketaminem). Hodnoty (% změny) představují průměr ± SEM.

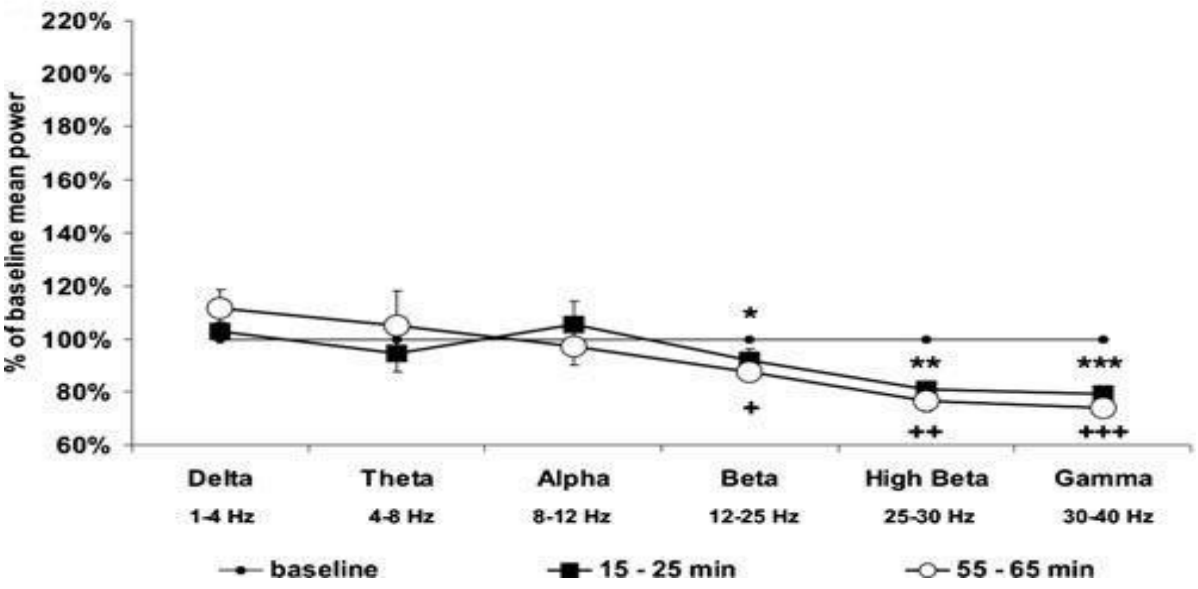


7.3.1.2 Serotonergní model s 2C-B

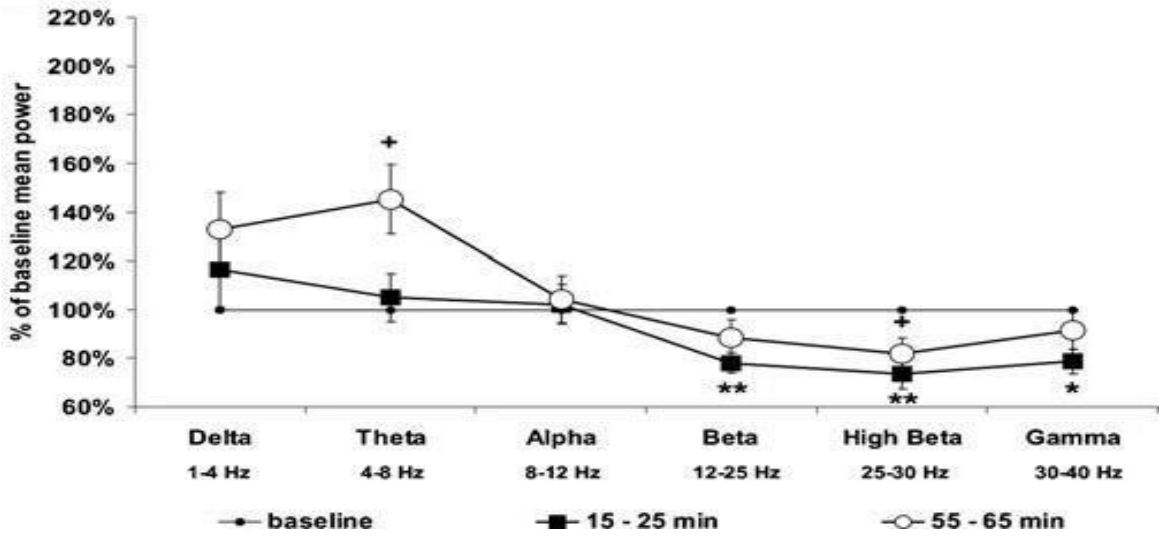
Výsledky one-way ANOVY ukázaly, že 2C-B 10 mg/kg má vliv na výkon v pásmu beta [$F(2, 16) = 4,96$; $p < 0.05$], vysoká beta [$F(2, 16) = 9,63$; $p < 0,01$] a gamma [$F(2, 16) = 16,81$; $p < 0,001$]. Látka 2C-B v dávce 10 mg/kg významně snižovala výkon v pásmech beta (88%), vysoká beta (77%) a gamma (74%) ($p < 0,05 – p < 0,001$) nad téměř všemi elektrodami obou hemisfér a to jak na začátku působení látky (15-25 minut po aplikaci) tak i později (55-65 minut po aplikaci) (*Obrázek 12*).

Výsledky one-way ANOVY pro 2C-B ukázaly, že 50 mg/kg má vliv na výkon v pásmu theta [$F(2, 14) = 4,44$; $p < 0.05$], beta [$F(2, 14) = 6,24$; $p < 0.05$] vysoká beta [$F(2, 14) = 6,74$; $p < 0,001$] a gamma [$F(2, 14) = 4,97$; $p < 0,05$]. Látka 2C-B 50 mg/kg významně snížila výkon v začátku působení (15-25 minut po aplikaci) a to na 76,3% bazální hodnoty ve frekvenčních pásmech beta, vysoká beta a gama ($p < 0,05 – p < 0,01$). Pozdější fáze (55-65 minut po aplikaci) byla charakterizovaná významným poklesem výkonu v pásmu vysoká beta ($p < 0,05$) a zvýšením v pásmu theta ($p < 0,05$). Tyto změny byly patrné nad všemi elektrodami hemisfér (*Obrázek 13*).

Obrázek č. 12 Výkonové spektrum po aplikaci 2C-B 10 mg/kg. Hodnoty (% změny) ukazují průměr ± SEM (* 0,05; ** p<0,01; *** p<0,001 od klidového záznamu 15-25 minut po aplikaci; + 0,05; ++ p<0,01; +++ p<0,001 od klidového záznamu 55-65 minut po aplikaci).



Obrázek č. 13 Výkonové spektra po aplikaci 2C-B 50 mg/kg. Hodnoty (% změny) ukazují průměr ± SEM (* 0,05; ** p<0,01 od klidového záznamu 15-25 minut po aplikaci; + p<0,05 od klidového záznamu 55-65 minut po aplikaci).



7.3.1.3 Glutamátergní model s ketaminem

Ketamin 9 mg/kg zvýšil v intervalu 2,5-7,5 min po aplikaci oproti kontrolám absolutní výkon v pásmu vysoká beta a gamma, resp. na 114% (p = 0.008) a 122% (p = 0.004). Změny byly patrné na všech elektrodách. Nepatrné změny byly přítomné taktéž v ostatních frekvenčních pásmech, více na levé hemisféře. Mezi 10-15 minutou po aplikaci se zvýšil absolutní výkon v delta pásmu na 168% (p=0,012) a tento účinek byl patrný na všech elektrodách. Tento efekt byl stále patrný i za 20-25 minut po aplikaci, přestože nebyl významný. Dále se objevilo několik zvýšení v levé hemisféře.

Ketamin 30 mg/kg zvýšil průměrný absolutní výkon ve všech frekvenčních pásmech: v pásmu delta (230%, p < 0,001 pro všechny intervaly), vysoká beta (222%, p < 0,001 pro 2.5–7.5 min a 10-15 min, p < 0,01 pro 20-25 min), gamma (304%, p < 0,001), theta (177%; p < 0.001 pro 2.5–7.5 min a 10–15 min, p < 0.01 pro 20–25 min), alfa (187%; p < 0,001 všechny časové úseky) a beta pásmu (175%; p < 0.001 pro 2.5–7.5 a 10–15 min, p < 0.05 pro 20–25 min). Změny byly patrné nad všemi elektrodami.

7.3.1.3. A. Úseky odpovídající behaviorální inaktivitě

V úsecích odpovídající behaviorální inaktivitě ve studii od Fujakova et al, 2014 ketamin 30 mg/kg 10-20 min po aplikaci významně snížil absolutní výkon v delta (t=3,3; p < 0.01) a theta (t = 2,88; p < 0,05) pásmu, na druhou stranu se zvýšil výkon v gamma pásmu (t=-2,89; p < 0,05). V relativním výkonu, ketamin 30 mg/kg snížil delta výkon (t = 2,67, p <

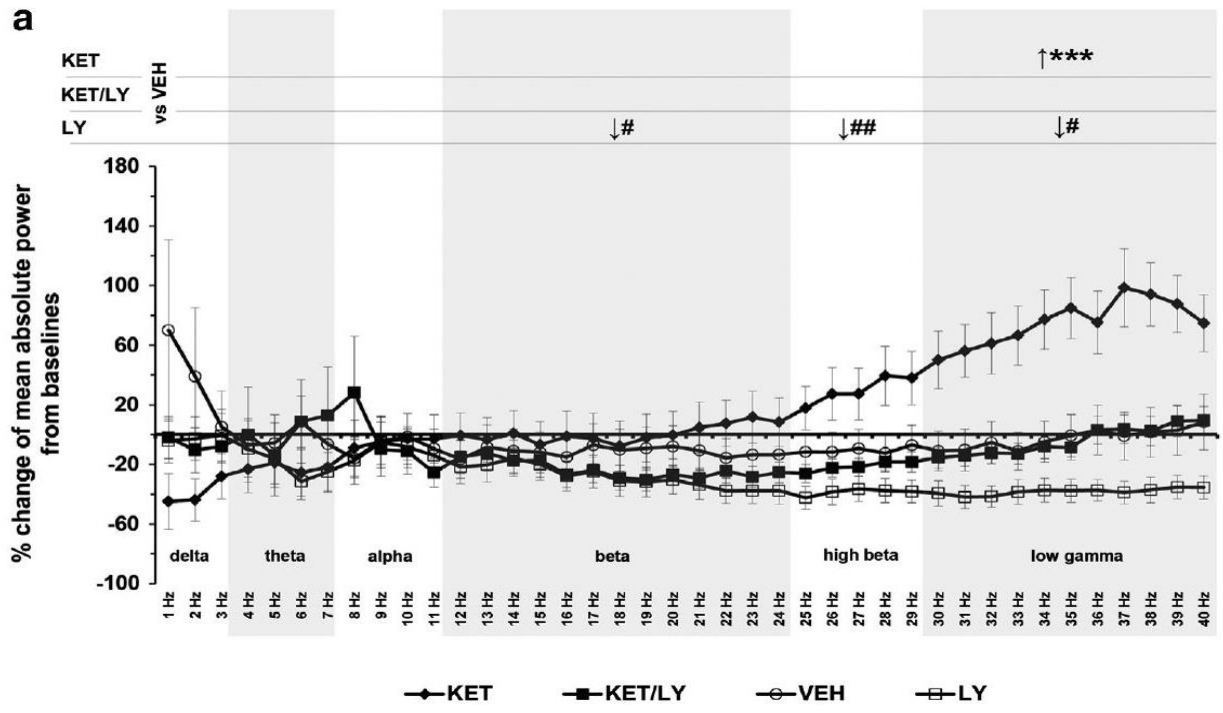
0,05) a zvýšil výkon v beta, vysoká beta a gamma pásmu (117%, 146% a 189%, t = -4,1; -5,92 a -5,79, p<0,001 pro všechny pásma). Tyto změny byly přítomné nad všemi elektrodami.

LY379268 3 mg/kg významně snížil absolutní výkon v beta, vysoká beta a gamma pásmu (72%, 61% a 61%; t=7,78, 8,01 a 7,71, p<0,001 pro všechny pásma) a významně snížil relativní výkon v pásmu vysoká beta a gamma (74% pro oboje pásma; t=3,07 a 3,22, p < 0,05 a p < 0,01). Tyto změny byly přítomné nad všemi elektrodami.

Kombinace ketaminu 30 mg/kg a LY379268 3 mg/kg významně snížila absolutní výkon v beta a vysoká beta pásmu (na 78 % pro oboje pásma; t=5 a 5,2, p < 0,001 pro oboje pásma) a relativní výkon v beta pásmu (89%, t=2,79, p < 0,05). Tyto změny byly přítomné nad všemi elektrodami. V gamma pásmu nebyla pozorovaná žádná změna, tudíž lze odvodit, že LY379268 normalizoval změny vyvolané ketaminem.

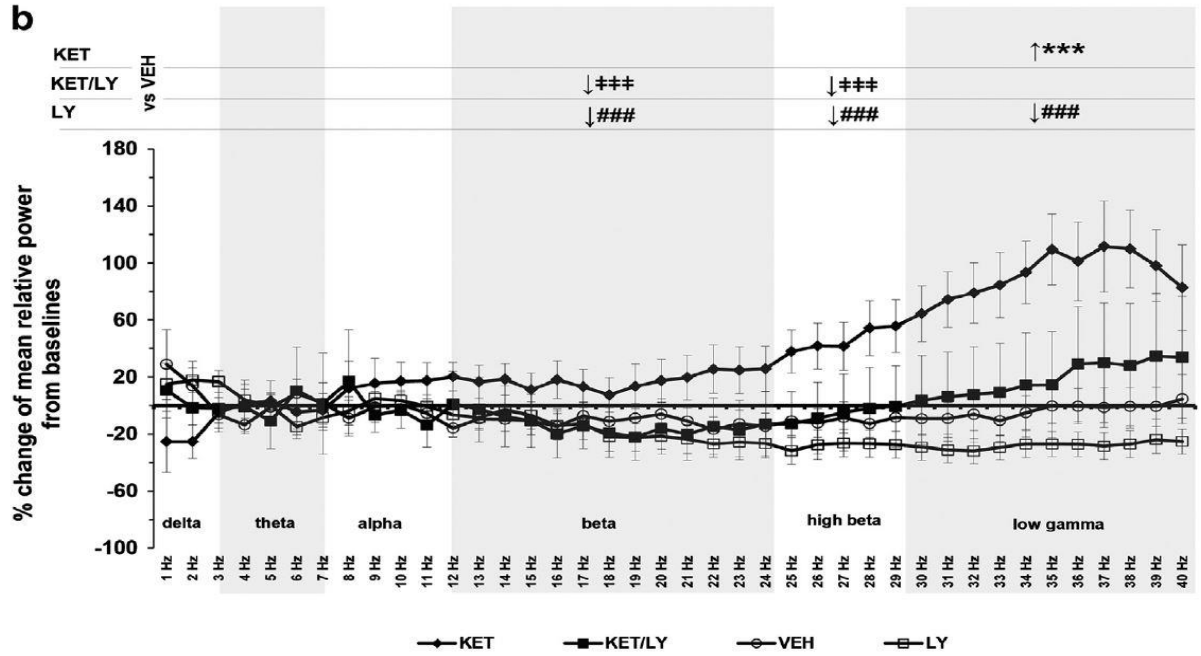
Při porovnání úseků behaviorální aktivity za použití ANCOVY se u absolutního spektra ukázal rozdíl mezi jednotlivými skupinami v beta [F (3, 39) = 6,608, p=0,001], vysoká beta [F(3, 39)=13,146; p < 0,001] a gamma pásmu [F(3, 39)= 12,106; p < 0,001]. Významné bylo zvýšení gamma pásma po ketaminu (p < 0,001). Samotný LY379268 snížil beta, vysoká beta a gamma pásmo (p < 0,05 - 0,001). LY379268 pouze účinkoval ve snížení ketaminem-indukovanému zvýšení v gamma pásmu (p < 0,01) (*Obrázek 14*).

Obrázek č. 14 Průměrné absolutní výkonové spektrum pro ketamin, LY379268 a kombinaci ketamin/LY379268. Pro lepší grafickou vizualizaci jsou data prezentována v 1 Hz úsecích jako % změna od baseliny. Signifikantní změny ve výkonu jsou v horní části tabulky a jejich směr změn je určen šipkou. Ketamin indukoval zvýšení v gamma pásmu, LY indukoval snížení ve vysoko-frekvenčních pásmech. *** značí p < 0,001 pro ketamin, # - ## značí p < 0,05 – 0,01 pro LY379268.



Při porovnání úseků behaviorální aktivity za použití ANCOVY se u relativního spektra ukázal rozdíl mezi jednotlivými skupinami v delta [$F(3, 39) = 3{,}414$; $p < 0{,}05$], beta [$F(3, 39) = 8{,}172$, $p < 0{,}001$], vysoká beta [$F(3, 39) = 19{,}211$; $p < 0{,}001$] a gamma pásmu [$F(3, 39) = 22{,}468$, $p < 0{,}001$]. Opět nastalo významné zvýšení gamma pásma po ketaminu ($p < 0{,}001$) a jeho výrazné snížení v kombinaci s LY3792686 ($p < 0{,}001$)(*Obrázek 15*).

Obrázek č. 15 Průměrné relativní výkonové spektrum pro ketamin, LY379268 a kombinaci ketamin/LY379268. Pro lepší grafickou vizualizaci jsou data prezentována v 1 Hz úsecích jako % změna od baseliny. Signifikantní změny ve výkonu jsou v horní části tabulky a jejich směr změn je určen šipkou. Ketamin indukoval zvýšení v gamma pásmu, LY indukoval snížení ve vysoko-frekvenčních pásmech. Kombinace ketaminu a LY379268 tyto změny normalizoval, navíc indukoval snížení v beta a vysoká beta pásmu. *** značí $p < 0{,}001$ pro ketamin, ### značí $p < 0{,}001$ pro LY379268, +++ značí $p<0{,}001$ pro kombinaci ket/LY379268.

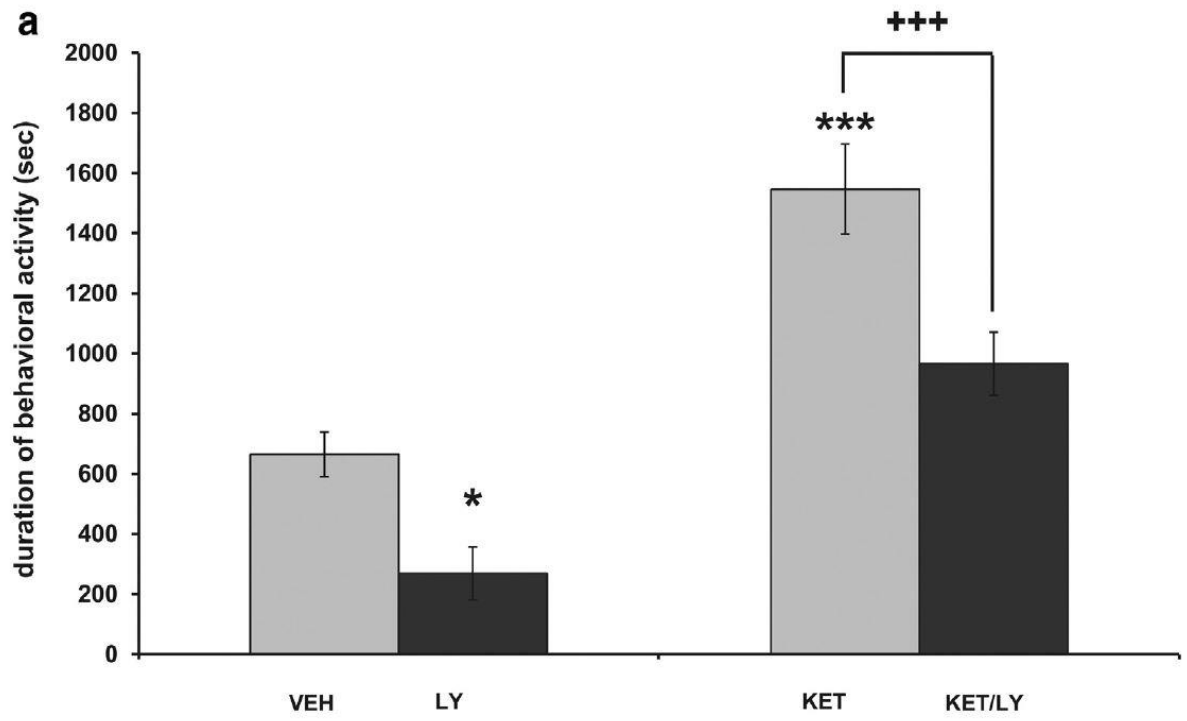


7.3.1.3. B. Úseky odpovídající behaviorální aktivitě

Analýza behaviorální aktivity ukázala, že významný vliv má léčba ketaminem [$F(1, 40) = 45{,}88$, $p < 0{,}001$] a aplikace LY379268 [$F(1, 40) = 17{,}51$, $p < 0{,}001$], ale neobjevuje se interakce těchto dvou faktorů. Potkani s aplikovaným ketaminem 30 mg/kg strávili mnohem víc času behaviorálně aktivní oproti potkanům s aplikovaným fyz. roztokem ($p < 0{,}001$). LY379268 blokoval tuto hyperaktivitu ($p < 0{,}001$), ale samotná látka způsobila sníženou behaviorální aktivitu ($p < 0{,}05$)(*Obrázek 16*).

Porovnání úseků behaviorální aktivity k inaktivitě ukázalo zvýšení absolutního výkonu ve všech frekvenčních pásmech o 5-21%. Významné zvýšení nastalo v delta a theta pásmu (116% a 121%, t=-2,21 a -2,97; p=0,05 a 0,01) v úsecích s behaviorální inaktivitou.

Obrázek č. 16 Trvání behaviorální aktivity u zvířat během natáčení EEG po administraci vehikula, ketaminu, LY379268 a kombinaci ketaminu a LY379268. Ketamin zvyšoval behaviorální aktivitu, LY379268 ji snižoval, stejně tak i v kombinaci s ketaminem. * a *** značí $p < 0{,}05$ a $0{,}001$; +++ značí $p < 0{,}001$.

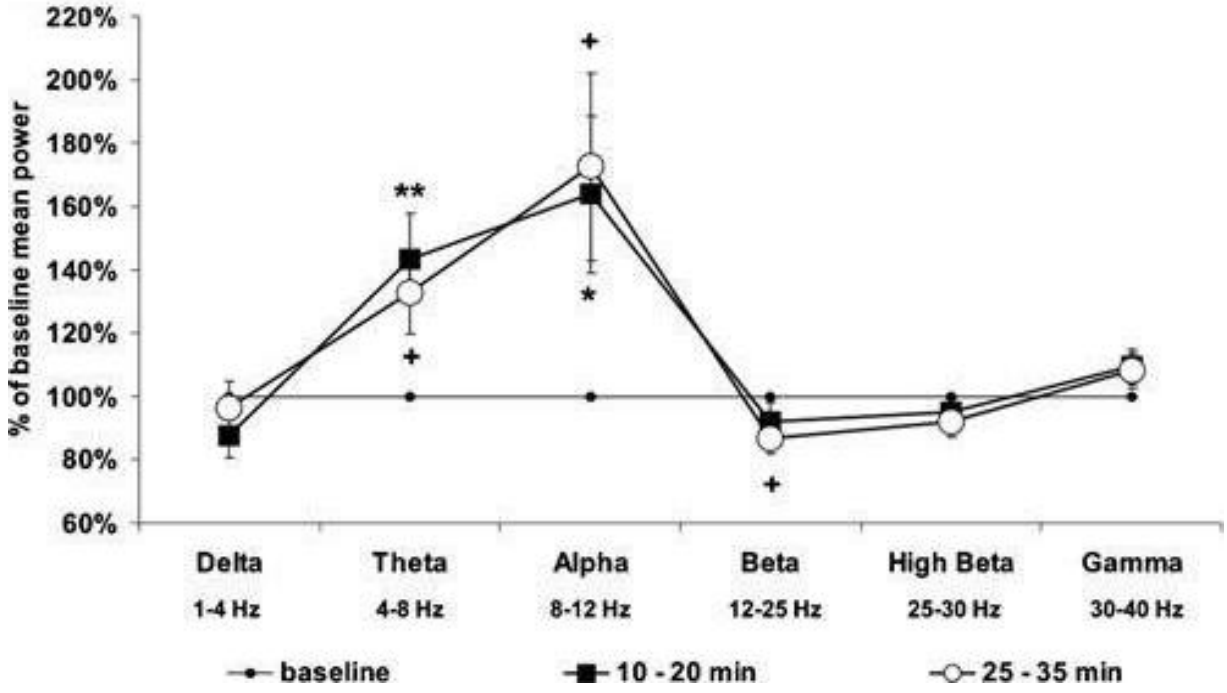


7.3.1.4 Dopaminergní model s amfetaminem

Amfetamin významně zvýšil průměrný výkon v pásmech theta ($p<0,01$) a alfa ($p<0,05$) a to jak 10-20 minut po aplikaci (tj. v počáteční fázi působení látky), tak i později mezi 25-35 minutou ($p<0,05$). Toto zvýšení se nejvíce projevilo nad parietálními elektrodami obou hemisfér (*Obrázek 17*).

Obrázek č. 17 Výkonové spektrum po aplikaci amfetaminu. Hodnoty (% změny) představují průměr ± SEM (** $p<0,01$ od klidového záznamu 10-20 minut po aplikaci; + $p<0,05$ od

klidového záznamu 25-35 minut po aplikaci).



7.3.2 EEG koherence

7.3.1.1 Kontroly s aplikací fyz. roztoku

U kontrol s vehikulem docházelo pouze k nepatrným změnám – nepatrné zvýšení ve fronto-parietálních a fronto-temporálních koherencích v delta a theta pásmu a snížení ve fronto-temporálním a fronto-parietálním intrahemisferálních a temporálních/parietálních inter-hemisferálních koherencí v pásmu vysoká beta a gamma během 10-15 minuty a 20-25 minuty po aplikaci.

V úsecích s behaviorální inaktivitou (20-30 minut po aplikaci) byly u těchto zvířat pozorované pouze malé změny: zvýšení hlavně v theta pásmu ve fronto-temporální intrahemisferální oblasti a v alfa pásmu ve fronto-parietální oblasti v obou hemisférách.

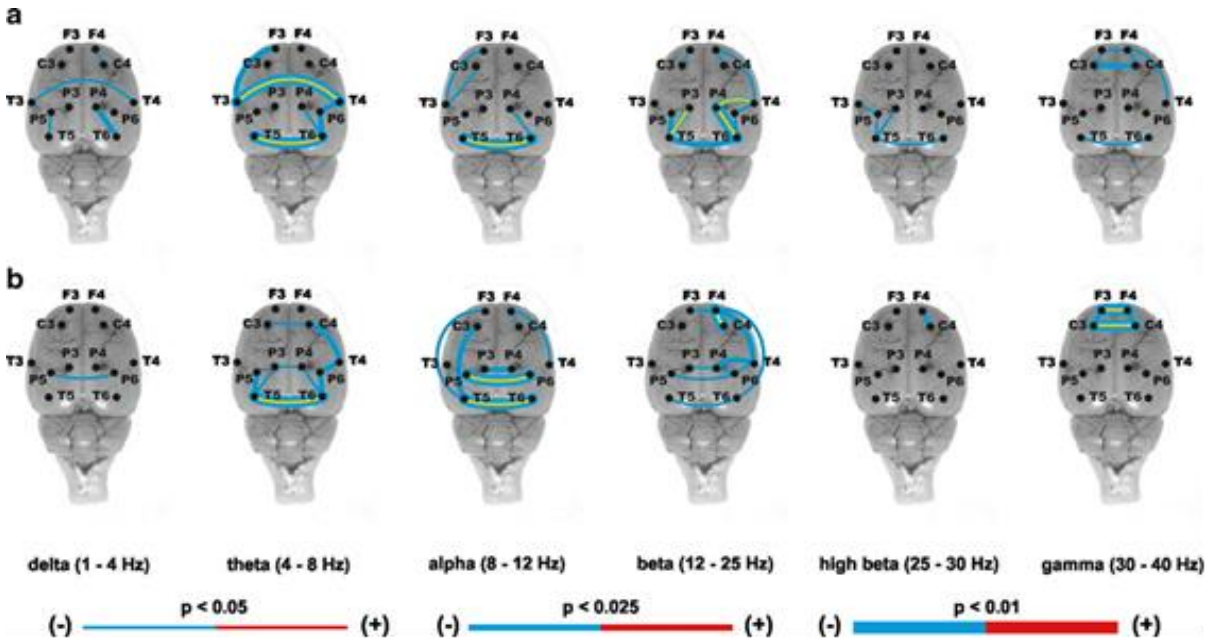
V úsecích s behaviorální aktivitou (20-30 minut po aplikaci) docházelo ke zvýšení v theta, alfa, beta, vysoká beta a gamma pásmu.

7.3.1.2 Serotonergní model s 2C-B

2C-B 10 mg/kg indukoval povšechný pokles koherencí ve všech frekvenčních pásmech. 15-25 minut po aplikaci se objevil zejména mezi oblastmi inter-hemisferálními temporálními a intrahemisferálními parieto-temporálními a fronto-temporálními, dále inter- a intrahemisferálně ve frontálních oblastech v beta, vysoká beta a gamma pásmu. 55-65 minut

po aplikaci se změny opakovaly, navíc se objevil pokles v interhemisferálních temporálních a parietálních koherencí a intrahemisferálních parieto-temporálních a fronto-temporálních (*Obrázek 18*).

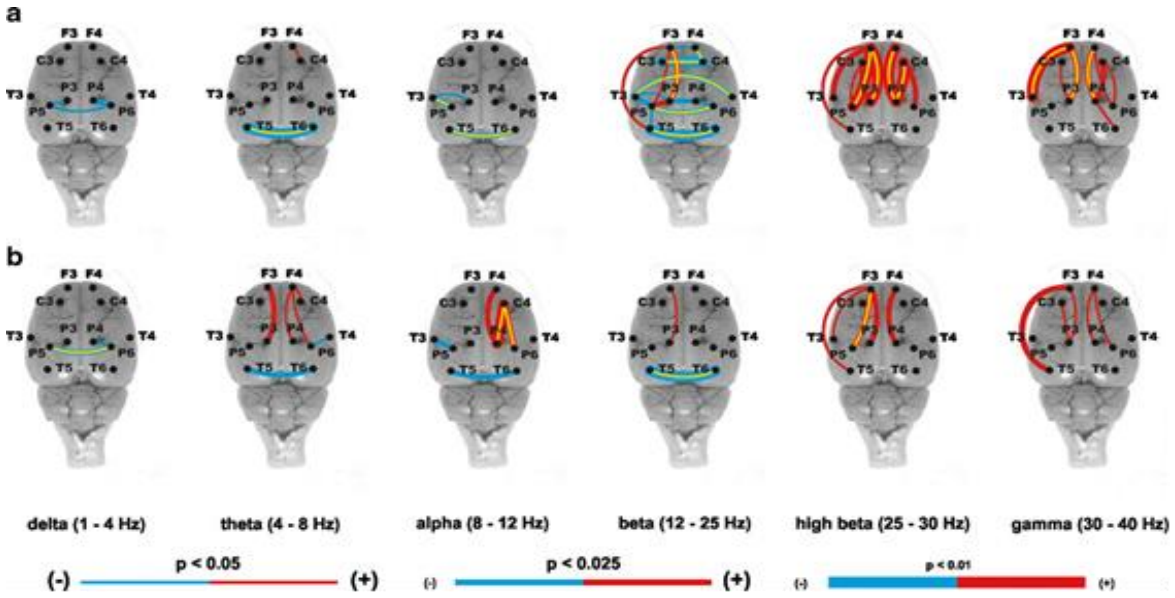
Obrázek č. 18. EEG koherence pro 2C-B 10 mg/kg 15-25 min (a) a 55-65 min (b) po aplikaci. 2C-B 10 mg/kg indukoval pouze snížení v koherencích. Červená značí zvýšení koherencí, modrá značí snížení koherencí. Tloušťka čáry značí statistickou významnost (párový t-test).



2C-B 50 mg/kg vedlo jak ke zvýšení, tak i snížení koherencí. 15-25 minut po aplikaci docházelo k poklesu frontálních, temporálních a parietálních inter-hemisferálních koherencí v pásmech delta, theta, alfa a hlavně v beta pásmu. Ve stejnou dobu se však zvýšili koherence intrahemisferální ve fronto-temporálních a fronto-parietálních oblastech ve vyšších pásmech. 55-65 minut po aplikaci pokračovalo snížení v temporálních inter-hemisferálních koherencích, v beta pásmu se objevilo méně změn. Nárůst intrahemisferálních fronto-parietálních koherencí byl méně výrazný a objevil se v nižších spektrech (theta a alfa) (*Obrázek 19*).

Obrázek č. 19. EEG koherence pro 2C-B 50 mg/kg 15-25 min (a) a 55-65 min (b) po aplikaci. 2C-B 50 mg/kg indukoval jak zvýšení tak snížení v koherencích. Červená značí zvýšení koherencí, modrá značí snížení koherencí. Tloušťka čáry značí statistickou významnost

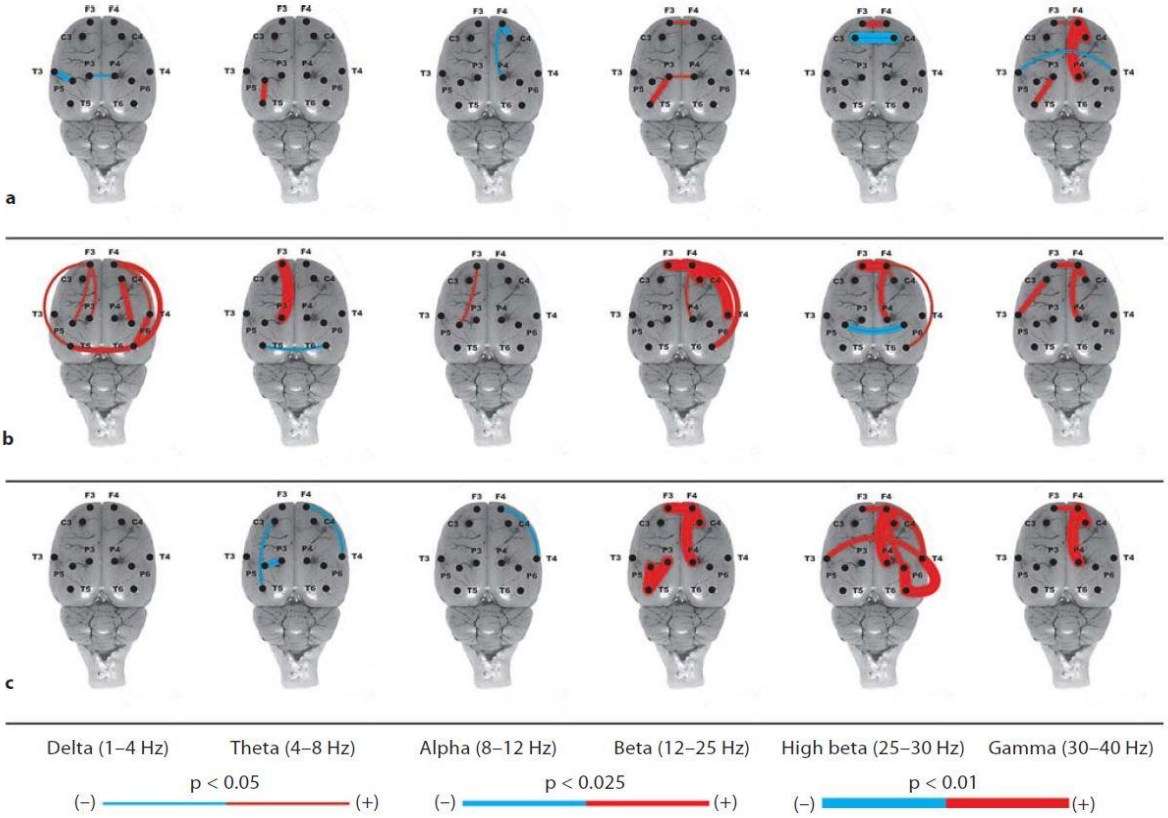
(párový t-test).



7.3.1.3 Glutamátergní model s ketaminem

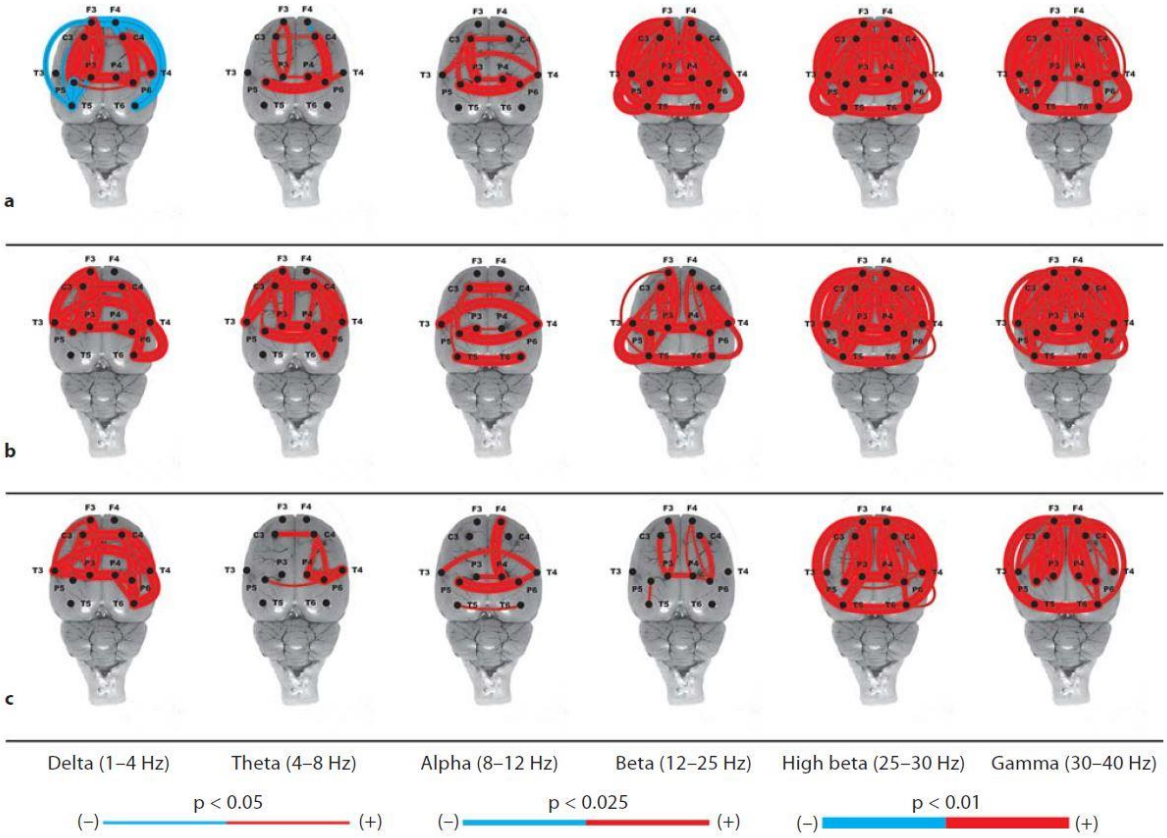
Ketamin 9 mg/kg 2,5-7,5 min po aplikaci mírně snížil koherence v gamma pásmu. V intervalu 10-15 min nastalo zvýšení frontálních, fronto-parietálních a fronto-temporálních intrahemisferálních koherencí v pásmu delta, beta, vysoká beta a gamma. 20-25 min po administraci se zvýšili frontální, fronto-parietální, fronto-temporální a parieto-temporální intrahemisférické koherence a frontální a temporální interhemisférické koherence v beta,vysoká beta a gama pásmu (*Obrázek 20*).

Obrázek č. 20. EEG koherence pro ketamin 9 mg/kg 2.5-7.5 min (a) 10-15 min (b) a 20-25 min (c) po aplikaci. Ketamin 9 mg/kg indukoval jak zvýšení, tak snížení v koherencích. Červená značí zvýšení koherencí, modrá snížení koherencí. Tloušťka čáry značí statistickou významnost (párový t-test).



Ketamin 30 mg/kg zvyšoval povšechně intra- i intehemisferální koherence. Na počátku měření se objevilo drobné snížení koherencí zejména v delta pásmu. Poté se zvýšili koherence zejména v beta, vysoká beta a gamma pásmu. V 10-15 min po aplikaci se navíc objevilo zvýšení koherencí v delta pásmu. Zvýšení se v posledních časových 2 intervalech objevilo hlavně ve frontálních, fronto-parietálních, fronto-temporálních a parieto-temporálních intrahemisferálních a frontálních a temporálních interhemisférických koherencích (*Obrázek 21*).

Obrázek č. 21. EEG koherence pro ketamin 30 mg/kg 2,5-7,5 min (a) 10-15 min (b) a 20-25 min (c) po aplikaci. Ketamin 30 mg/kg indukoval převážně zvýšení v koherencích. Červená značí zvýšení koherencí, modrá značí snížení koherencí. Tloušťka čáry značí statistickou významnost (párový t-test).



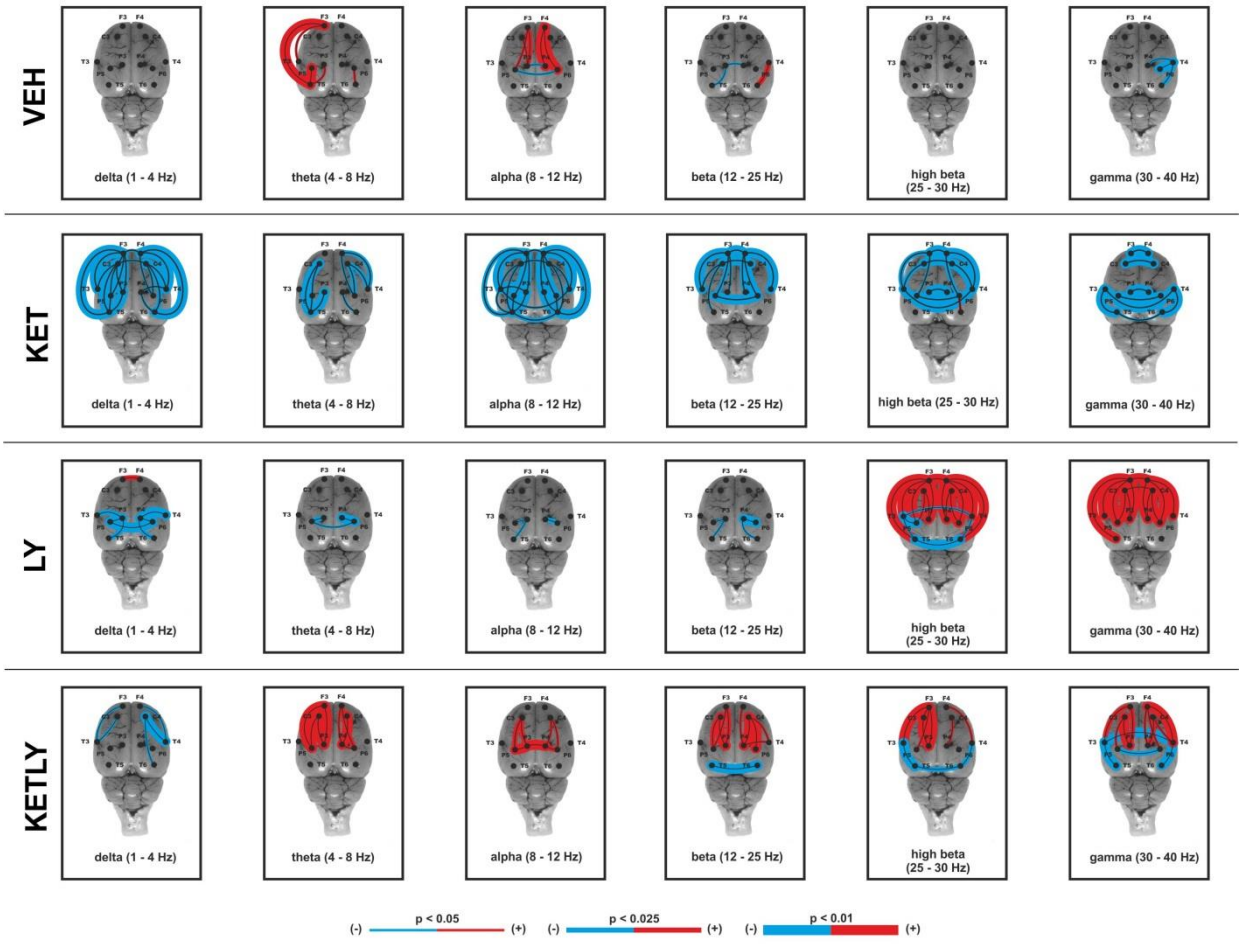
7.3.1.3. A. Úseky odpovídající behaviorální inaktivitě

Ketamin 30 mg/kg robustně snižoval intra-hemisferální koherence v delta, theta, alfa a a beta pásmu a inter-hemispherální koherence v beta, vysoká beta a gamma pásmu u většiny elektrod.

Samotný LY379268 zvyšoval koherence ve vysoké beta a gamma pásma především v fronto-parietální a fronto-temporální oblastech každé hemisféry. Naopak snížení koherencí nastalo mezi parietální a temporálními oblastmi v delta až vysoká beta.

Administrace LY379268 3 mg/kg v kombinaci s ketaminem 30 mg/kg normalizovala změny po ketaminu (tj. jeho snížení) kromě inter-hemisferálních koherencí v beta, vysoká beta a gamma pásmu (*Obrázek 22*).

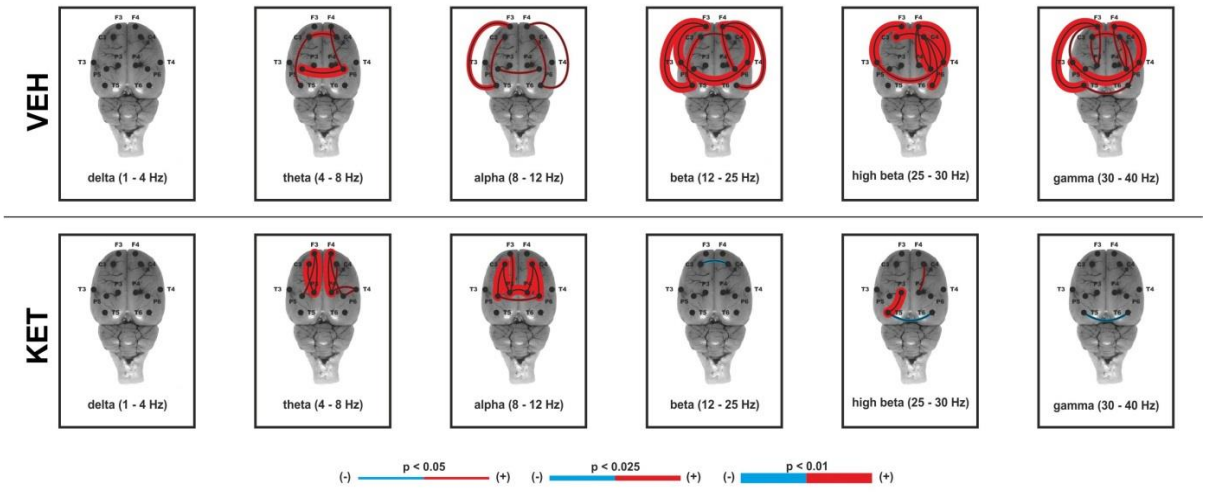
Obrázek č. 22. Signifikantní změny v EEG koherencích – vše porovnáváno s epochami před administrací látek. Významné změny (zvýšení/snížení) v EEG koherencích během behaviorální inaktivity u vehikula, ketaminu 30 mg/kg, LY379268 3 mg/kg a kombinace ketaminu a LY379268. Červená značí zvýšení koherencí, modrá značí snížení koherencí. Tloušťka čáry značí statistickou významnost (párový t-test).



7.3.1.3. B. Úseky odpovídající behaviorální aktivitě

Behaviorální aktivita zvýšila koherence v porovnání s inaktivitou. U ketaminu 30 mg/kg to bylo především v theta a alfa pásmu (*Obrázek 23*).

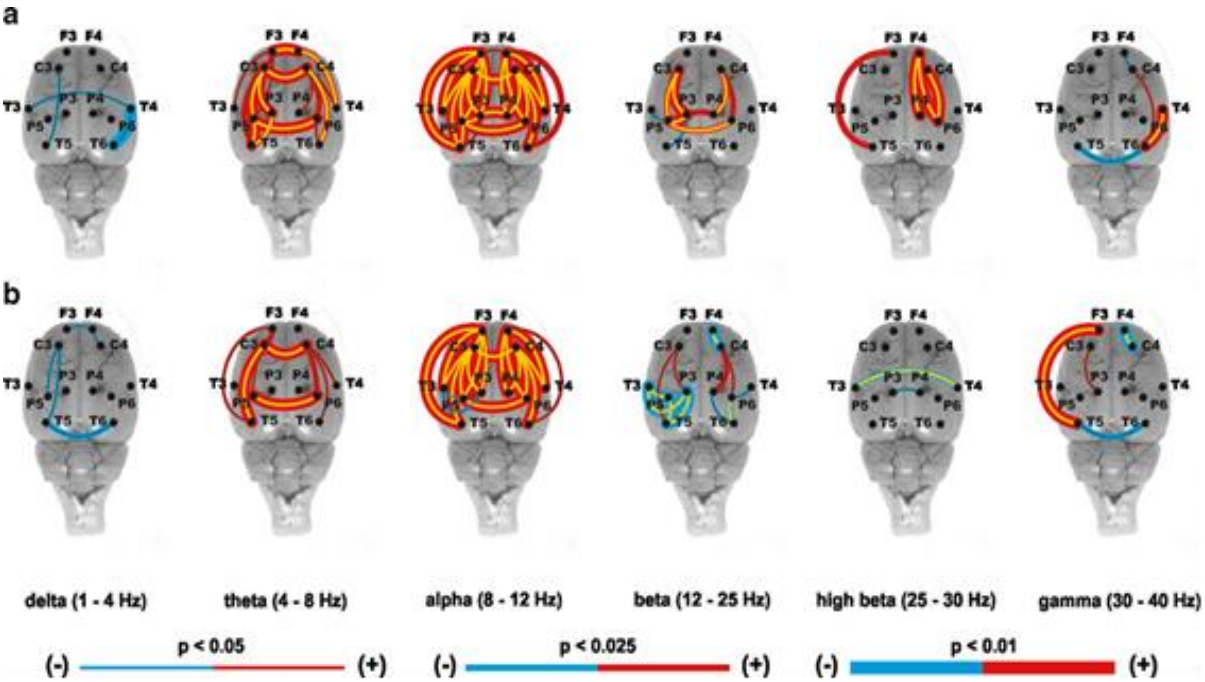
Obrázek č.23 Signifikantní změny během behaviorální aktivity u vehikula a u ketaminu 30 mg/kg. Červená značí zvýšení koherencí, modrá značí snížení koherencí. Tloušťka čáry značí statistickou významnost (párový t-test).



7.3.1.4 Dopaminergní model s amfetaminem

Amfetamin 4 mg/kg 10-20 minut po aplikaci zvyšoval téměř všechny koherence v pásmech theta a alfa, méně patrně i v pásmech beta, vysoká beta a gama. Snížení se vyskytovala zejména v pásmu delta. 25-35 minut po aplikaci byly změny podobné, kromě bety a vysoké bety kde koherence poklesly (*Obrázek 24*).

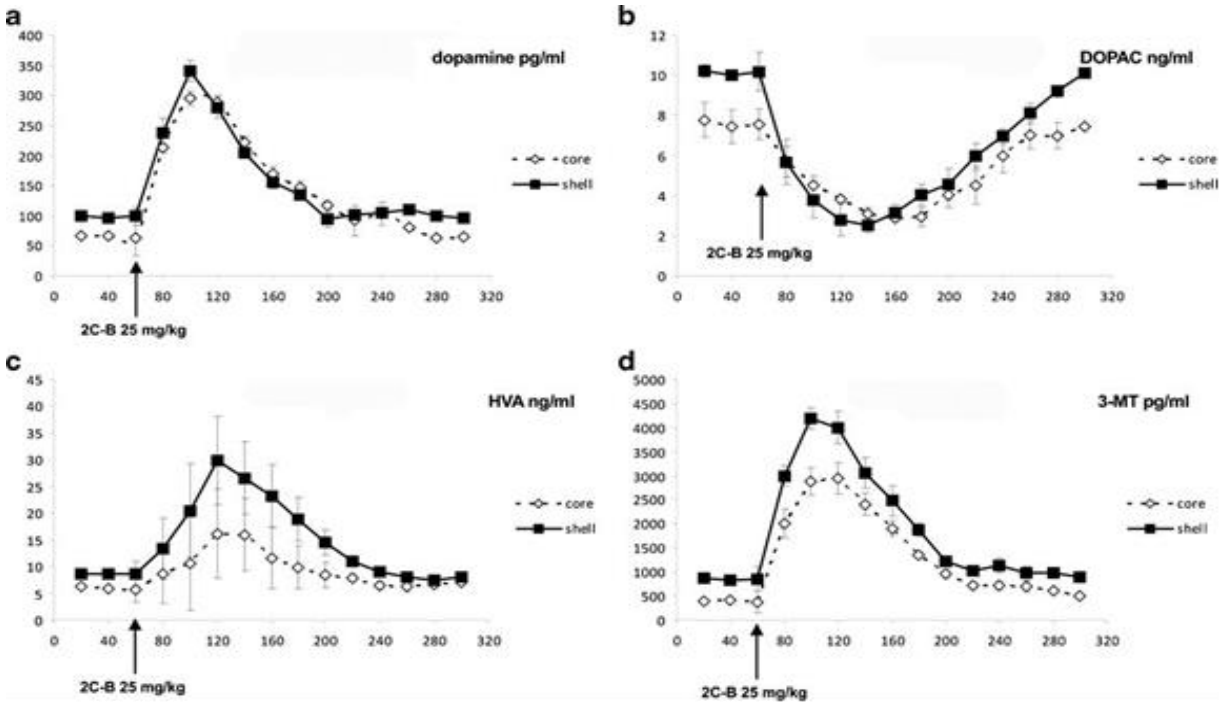
Obrázek č. 24 EEG koherence amfetaminu 4 mg/kg 10-20 min (a) a 25-35 min (b) po aplikaci – porovnání s epochami před aplikací. Červená značí zvýšení koherencí, modrá značí snížení koherencí. Tloušťka čáry značí statistickou významnost (párový t-test).



7.4 Mikrodialyzační experiment (pouze serotonergní model)

Látka 2C-B měla vliv na hladiny dopaminu a jeho metabolitů (X2=99,3 (dopamin), 108,8 (DOPAC), 65,5 (HVA), 113,6 (3-MT), df = 14, $p < 0,001$ pro všechny monoaminy). Aplikace 2C-B 25 mg/kg zvýšila 4,5 násobně hladinu dopaminu jak v NAc core, tak i shell ($p < 0,05 – p < 0,001$). Mnohonásobné zvýšení bylo pozorováno i u metabolitů HVA (6ti násobné, $p < 0,05 – p < 0,001$) a 3-MT (7 násobné $p < 0,05 – p < 0,001$). Hladina metabolitu DOPAC poklesla v NAc core na 38% a v NAc shell na 25% bazální hodnoty (*Obrázek 25*).

Obrázek č.25. Látka 2C-B 25 mg/kg měla vliv na hladiny dopaminu (a), DOPAC (b), HVA (c) a a 3-MT (d) v dřeni a plášti nucl. accumbens. 2C-B signifikantně zvýšila hladiny dopaminu, HVA a 3-MT, na druhou stranu snížila hladiny DOPAC. Všechny data jsou znázorněny jako průměr ± SEM.



7.5 Farmakokinetika

Po aplikaci ketaminu 30 mg/kg i.p. došlo k nárůstu hladin ketaminu a jeho metabolitu (norketaminu). Produkce norketaminu byla rychlá a převyšovala původní koncentraci ketaminu. Vrchol koncentrace ketaminu v mozkové tkáni byl dosažen během 10 minut a přetrvával do 20 minuty po aplikaci. Průměrná koncentrace ketaminu v mozku byla 3-5 x vyšší v porovnání se sérem. Naproti tomu byla více polární molekula norketaminu v mozkové tkáni přítomná v menším množství – jeho hladiny v mozku krátce po aplikaci jen lehce předčily hladiny v séru.

8. Diskuze k výsledkům a zhodnocení cílů práce

8.1 Behaviorální experimenty, farmakokinetika a mikrodialýza.

V behaviorálních pokusech jsme v glutamátergním modelu SCHZ potvrdili, že vyšší subanestetická dávka ketaminu (30 mg/kg) způsobovala vyšší behaviorální aktivitu – zejména hyperlokomoci. Zároveň však obě dvě dávky (9 i 30 mg/kg) indukovaly deficit v PPI. Během behaviorálních a EEG pokusů se po dávce 30 mg/kg objevilo třepání hlavou a jiné stereotypie. Menší dávka ketaminu navozovala hypolokomoci, která je pravděpodobně odrazem počáteční ataxie pozorované u psychedelik (např. Palenicek et al, 2010). Agonista mGlu2/3 LY379268 3 mg/kg normalizoval ketaminem indukovanou hyperlokomoci, avšak prohluboval deficit v PPI. Vzhledem k tomu, že samotný agonista způsobuje hypolokomoci a deficit v PPI, lze vysvětlit prohloubení PPI deficitu jako prosté sečtení účinku těchto dvou látek. Blokádou ketaminem-navozené hyperlokomoce by mohl mít agonista mGlu2/3 receptorů potencionální antipsychotický účinek. Tento fakt ovšem zpochybňuje neúčinnost agonisty na normalizaci změn v PPI.

Našimi pokusy jsme tedy potvrdili věrohodnost hypoglutamátergního modelu SCHZ, kdy hyperlokomoce je odrazem pozitivních symptomů SCHZ (Lipska a Weinberger, 2000) a deficit v PPI je odrazem narušeného sensorimotorického zpracování pozorovaného u SCHZ pacientů (Geyer et al, 2001). Je zajímavé, že obě dvě látky působící opačným mechanismem na glutamátergní systém (tj. ketamin a mGlu2/3 agonista) způsobují narušení senzorimotorického zpracování. To lze interpretovat tak, že dysregulace v glutamátergním systému v jakémkoli směru (zvýšení či snížení) způsobuje deficit v PPI. Hodnocení farmakokinetiky nám potvrdilo, že všechny pokusy byly prováděny v časovém intervalu korespondující s nejvyšší hladinou ketaminu (a jeho metabolitu) v mozkové tkáni.

V serotonergním modelu způsobila látka 2C-B počáteční hypolokomoci následovanou hyperlokomocí (analýza po 60 minutě od aplikace), která souvisela s očekávanou nejvyšší mozkovou koncentrací a schopností 2C-B uvolňovat dopamin (Rohanova et al, 2008). Hypolokomoce následovaná hyperlokomocí stejně jako závislost účinku na čase a dávce je popisována i u jiných psychedelik (Adams a Geyer 1982; Palenicek et al, 2010), avšak nikoliv u amfetaminů (zde je hyperlokomoce, např. Palenicek et al, 2005). Zvýšení čas strávený v centru arény po dávce 50 mg/kg by mohl být odrazem stereotypního chování (Gentry et al, 2004; Paulus a Geyer 1992), inhibičního účinku nebo snížené úzkosti zvířat po 2C-B (Páleníček et al, 2008). Dále jsme potvrdili, že 2C-B narušuje PPI, avšak na počátku účinku snižuje úlekovou reakci. Tento poznatek souhlasí s časem stráveným v centru arény, kdy jako

možné vysvětlení je snížení úzkosti po aplikaci (Bourin et al. 2007). Anxiolytické účinky 2C-B byly potvrzeny i v testu ultrasonické vokalizace (Kubesova et al, 2011). Aplikace 2C-B 60 minut před pokusem ukázala o něco menší změny v ASR, nicméně deficit PPI přetrvával.

V mikrodialyzačním experimentu bylo zjištěno, že látka 2C-B v dávce 25 mg/kg zvyšovala dopamin v NAc. Z toho lze usoudit, že NAc se pravděpodobně funkčně podílí na změnách v lokomoci a PPI, navíc s výdejem dopaminu může souviset jeho psychotomimetický a adiktivní účinek. Pokles hladiny metabolitu DOPAC lze interpretovat jako inhibiční účinek na enzym monoaminooxidázu (MAO), naopak zvýšení metabolitu 3-MT ukazuje na zachování funkce enzymu katechol-O-metyltransferázy (COMT). Nebylo však objasněno zvýšení hladiny HVA (konečný produkt DA metabolismu), který může být katalyzován pomocí 2 izoforem MAO. Je pravděpodobně, že 2C-B ovlivňuje jen jednu z nich (Kalgutkar et al, 2001). Dalším možným vysvětlením zvýšení hladin dopaminu může být vliv na funkci dopaminového transportéru.

8.2 EEG data

8.2.1 Serotonergní model –výkonové spektrum

V serotonergním modelu s 2C-B nastal pokles výkonu ve vysokých frekv. pásmech (kromě dávky 50 mg/kg 60 min po aplikaci - zde došlo k nárůstu theta). 2C-B dále vedl k nárůstu výkonu v theta a stejný nárůst v theta a navíc v alfa výkonu byl pozorován i u amfetaminu. Zvýšení v těchto pásmech u 2C-B a amfetaminu pravděpodobně odráží jejich lokomoční aktivitu (Young 1988) a zvýšenou bdělost (Ambrosini et al. 1994). Tuto domněnku potvrzují i naše předchozí nálezy s ketaminem, kde vrchol mezi 7-8 Hz byl asociován s behaviorální aktivitou (Palenicek et al. 2011; Vyazovskiy et al, 2007). Vzhledem k tomu, že ve stejný čas dochází k nejvyššímu výdeji dopaminu, je pravděpodobné, že theta pásmo odráží neurobiologický substrát těchto změn. Zvýšení frontální alfa byl popsán i u jiných psychedelik (Dimpfel et al. 1989), avšak toto zvýšení nenastává na začátku účinku látek, ale v pozdějších fázích, kde jiní autoři popisují zvýšení behaviorálních aktivit (Geyer et al. 1979; Marona-Lewicka et al. 2005). Oproti pozorovanému vrcholu alfa/theta, byl povšechný pokles ve výkonu po 2C-B pozorován i v našich předchozích studiích s LSD, meskalinem, psilocinem a dimetoxybromoamfetamin (DOB) (Fujakova et al, 2011; Tyls et al, 2011) i ve studiích s entaktogeny N-metyl-1,3-benzodioxolylbutanamin a 3,4-Metylenedioxymetamfetamin (Dimpfel et al. 1989).

8.2.2 Serotonergní model psychózy –EEG koherence

Serotonergní model taktéž indukoval několik změn v koherencích a tyto změny byly závislé na dávce a času. Hlavní nález byla trvalá diskonekce po 2C-B 10 mg/kg oproti 2C-B 50 mg/kg, kde docházelo ke zvýšení konektivity ve vyšších částech spektra a zvýšení lokomoce. Bohužel do data publikace neexistovaly animální studie, se kterými bychom tyto nálezy mohli porovnat. Zvýšené koherence po 2C-B 50 mg/kg (a po amfetaminu) mohou mít opět souvislost s jejich hyperlokomočním účinkem a mohou být vztahovány ke zvýšení dopaminu v NAc. Navíc může zvýšený dopamin napomáhat disrupci sensorimotorického zpracování (NAc core) (Geyer et al, 2001) a přispívat k jeho potenciálu indukovat psychotické symptomy (NAc shell) (Vollenweider et al, 1999). Jak bylo zmíněno v Obecné části, stejný účinek – tj. zvýšení celkové funkční konektivity- bylo pozorováno i v nedávných studiích s lidskými dobrovolníky po aplikaci 5-HT1 a 5-HT2 agonisty psilocybinu (Carhart-Harris et al, 2013). Snížení koherencí u dávky 2C-B 10 mg/kg mohou napodobovat jiné serotonergní halucinogeny v nižších dávkách (LSD, DOB, mezkalin, psilocin) (Tyls et al, 2011; Fujakova et al, 2011) nebo indikovat nedostatečnou dávku k indukci psychózy měřitelnou v kortikálním EEG.

Poruchy oscilací pozorované v spektrální a koherenční analýze u 2C-B mohou pravděpodobně odrážet deficitní zpracovávání informací (např. vhodné získání informací a zpracování prostorových reprezentací). Jestliže se tyto změny asociují s výsledky behaviorálních pokusů (změny lokomoce, stereotypie, poškození PPI), lze předpokládat, že odrážejí psychedelický potenciál 2C-B.

8.2.3 Glutamátergní model - výkonové spektrum

V glutamátergním modelu jsme ukázali specifické změny v EEG parametrech, které jsou závislé na dávce. Změny nejvíc odpovídaly farmakokinetice ketaminu, tj. byly nejvíc patrné 10-15 minut po aplikaci. Během experimentu, kde se nesledovala behaviorální aktivita (Páleníček et al, 2013), obě dvě dávky zvyšovaly absolutní výkon v delta, beta a gamma pásmu. Ketamin 30 mg/kg zvyšoval výkon v theta až beta pásmech společně s hyperlokomocí. Naproti tomu dávka 9 mg/kg nezvyšovala výrazně výkon (kromě gamma na počátku a delta mezi 10-15 min) a vyvolala hypolokomoci. Ve shodě jsou však výsledky ohledně zvýšení gamma oscilací vyšší dávkou ketaminu, popsaného jak v hipokampu (Ma a Leung 2007) tak v kortexu/ neokortexu (např. Hakami et al, 2009). Naše výsledky odpovídají předchozí studii, kde nízké dávky NMDA antagonistů zvýšily výkon mezi 1-3 Hz a snížily výkon mezi 9-30 Hz, zatímco vyšší dávky zvýšily výkon téměř ve všech frekvenčních

pásmech (Sebban et al, 2002). Částečně rozporné jsou výsledky od Dimpfel et al, který popsal na dávce závislý bifázický účinek NMDA antagonistů, kde nízké dávky zpočátku snižovaly výkon ve všech frekvenčních pásmech a vyšší ho zvyšovaly (Dimpfel et al, 1990).

Je zajímavé, že zatímco změny v theta až alfa pásmu byly změněné pouze s vyšší dávkou ketaminu, delta a gamma byly ovlivněny oběma dávkami. To souhlasí s předchozími studiemi (Nagy et al, 2016, Dworak et al, 2011), kde např. Nagy et al, pozoroval několikanásobné zvýšení v absolutním výkonu v delta i gamma pásmu jak v kortexu, tak hipokampu po ketaminu 10 a 80 mg/kg (Nagy et al, 2016). Vzhledem k tomu, že obě dávky způsobovaly deficit v PPI (ale ne v lokomoci) může zvýšení ve výkonu souviset se změněným sensorimotorickým zpracováním. Stejně tak změny theta-delta pásmu pozorované v našem experimentu a u anestezovaných potkanů naznačují, že tyto změny jsou typické pro samotnou látku.

Nedávná studie předpokládá, že chování může být jedním z faktorů, které významně ovlivňuje EEG signál. Studie od Maloney et al (1997) ukázala, že behaviorální aktivita po ketaminu je asociovaná s theta vrcholem a zvýšenými koherencemi v gamma pásmu. Náš pokus rovněž potvrdil zvýšení ve všech frekvenčních pásmech a v theta a alfa koherencích v behaviorálně aktivních úsecích. V obou našich studiích a u obou látek (analyzovaná vs neanalyzovaná beh. aktivita) bylo pozorováno zvýšení v gamma aktivitě. Z toho lze dojít k závěru, že gamma aktivita je charakteristická pro látku samotnou a je nezávislá na behaviorální aktivitě. Podobná data přinesla i naše předchozí studie s více selektivním NMDA antagonistou MK-801 v behaviorálně aktivních dávkách (tj. zvýšené gamma oscilace u aktivity/neaktivity a snížené koherence v episodách inaktivity). Výše uvedené data lze interpretovat tak, že nekompetitivní blokáda NMDA receptoru navozuje charakteristické qEEG změny ve smyslu zvýšení gamma aktivity.

Náš přístup k analyzování výsledků v epochách behaviorální inaktivity (Fujakova et al, 2014) přináší výsledky více srovnatelné s lidskými nálezy. Oproti naší předchozí studii zmíněné výše (Pálenicek et al, 2011), patří k hlavním přednostem této analýzy zaměřené na behaviorální inaktivitu zbavení se biologických artefaktů (např. prominetní svalové artefakty způsobené pohybem hlavy). Vzhledem k tomu, že klidový záznam (tj záznam se zavřenými oči v bdělém stavu) patří mezi standartní způsob registrace EEG u lidí, mají naše data vyšší translační validitu a mohou být využita také jako animální model klidového EEG.

Normalizací gamma oscilací agonistou mGlu2/3 LY379268 jsme potvrdili předchozí animální nálezy (Feinberg et al, 2005; Jones et al, 2012). Z toho lze usoudit, že gamma oscilace vznikají narušením rovnováhy mezi excitační a inhibiční složkou. Samotná látka LY379268 snižovala výkon v pásmu beta a vysoká beta, poznatek rovněž opublikovaný v předchozích studiích (Feinberg et al, 2005; Jones et al, 2012). Vzhledem k tomu, že beta oscilace bývají spojovány se sensorimotorickým zpracováním, plánováním motorických a kognitivních úkolů (Brown et al, 2001; Engel a Fries 2010) navrhujeme, že beta abnormality mohou zvýrazňovat hypolokomoční účinek. Částečně jsme taktéž potvrdili antipsychotický potenciál LY379268, který snižoval beta výkon stejně jako ostatní antipsychotika (např. olanzapin, haloperidol) (Dimpfel et al, 2007; Saletu et al, 1986). Role mGlu2/3 agonisty v ovlivnění dopaminergního systém je však stále nejasná.

8.2.4 Glutamátergní model – EEG koherence

Hlavním nálezem v EEG koherencích bylo zvýšení koherencí v celém spektru, nejvíce patrné v dávce 30 mg/kg. Během nástupu účinku jsme pozorovali i snížení v delta koherencích. Změny opět korespondovaly s hladinami ketaminu v mozku. Nízká dávka ketaminu produkovala na začátku málo změn, v pozdějších fázích se koherence taktéž spíš zvyšovaly. Z výsledků je patrné, že účinek ketaminu je závislý na dávce a má bifázický charakter (podobně jako u 2C-B).

Zvýšení koherencí – zejména patrné u dávky 30 mg/kg – neodpovídá diskonekční teorii SCHZ, ale je v souladu s akutním psychotickým stavem pozorovaným u lidských dobrovolníků po aplikaci psilocybinu nebo ketaminu (Driesen et al, 2013; Carhart Harris et al, 2013). Hyperkonetkivita navozená subanestetickou dávkou ketaminu tudíž lépe odpovídá časným fázím SCHZ, jak bylo potvrzeno v studii od Anticevic et al, 2015. Jak již bylo popsáno v obecné části, vzhledem k heterogenitě SCHZ onemocnění bývají koherence u těchto pacientů různorodé, přičemž většina popisuje jejich snížení. Naše výsledky v publikaci, kde se nesledovalo chování potkana po aplikaci, proto spíše odpovídá akutní intoxikaci a neodpovídá většině nálezů u SCHZ pacientů. Zcela novým výsledkem bylo, že analýza EEG koherencí v behaviorálně neaktivních úsecích odhalila snížení koherencí. Bohužel do submitace disertační práce neexistuje publikace, která by potvrdila/vyvrátila tento výsledek. Rovněž úplně nové zjištění bylo, že látka LY379268 toto snížení v koherencích po ketaminu normalizovala. Samotná látka však vedla ke zvýšení koherencí ve vysoká beta a gamma – tento účinek byl pozorován i u kombinace ketaminu a LY379268.

Zvýšené gamma koherence pozorované v aktivních úsecích byli publikované i ve studii od Maloney et al (1997). Toto zvýšení koherencí může být tudíž asociované s hyperlokomocí a jiným chováním, např. stereotypiemi a může taktéž reflektovat kortikální synchronizaci - blokádou NMDA-R se narušuje glutamátergní spojení, které znemožňuje fungování GABA interneuronů a dochází k disinhibici glutamátergních pyramidových neuronů. Subkortikální struktury se následně synchronizují a na pozadí spektra dochází ke kortikálním oscilacím. Jiným vysvětlením zvýšených koherencí během behaviorální aktivity může být i zvýšení EEG výkonu, který vzniká 2 různými mechanismy 1/ jednak zvýšením synchronie neuronů pod elektrodou 2/ anebo zvýšeným množstvím aktivních neuronů pod elektrodou (Niedermayer a Lopes da Silva, 2004). Hypersynchronie pozorovaná u koherencí může tedy být přímou příčinou zvýšeného výkonu v celé šíři spektra.

8.2.5 Dopaminergní model psychózy – výkonové spektrum a koherence

V dopaminerngím modelu se zvýšil výkon v theta a alfa, který pravděpodobně odpovídá zvýšené lokomoční aktivitě. Mírný pokles koherencí v beta pásmu taktéž koresponduje se změnami v lokomoci.

8.2.6 Aplikace fyziologického roztoku – výkonové spektrum a koherence

Aplikace fyziologického roztoku kontrolním zvířatům nezpůsobila v EEG výrazné změny. Zvýšení zastoupení nízkofrekvenčních pásem po 60 minutách je pravděpodobně důsledkem převráceného cirkadiánního rytmu potkanů (během dne spí). Tato domněka se potvrdila i při pozdějším nahrávání, kdy byli potkani opakovaně buzeni. Zvýšené zastoupení pomalých vln je charakteristické pro pro spánkovou deprivaci (Everson et al, 1989a; Everson et al, 1989b).

9. Závěr

Předkládaná disertační práce je souborem tří původních publikací věnovaných studiu SCHZ z hlediska behaviorálního a elektroencefalografického u farmakologických animálních modelů.

V serotonergním modelu (pomocí 2C-B) jsme popsali časově a dávkově bifázický účinek 2C-B na lokomoci (hypolokomoce následovaná hyperlokomocí). Tím jsme potvrdili ostatní studie s halucinogeny (Geyer et al. 1979; Palenicek et al. 2010). Dále jsme doložili deficit prepulzní inhibice akustické úlekové reakce, taktéž potvrzený pro látky ovlivňující dopamin a serotonin (Swerdlow et al. 2003; Palenicek et al. 2008). V mikrodialýze koreloval výdej dopaminu s pozorovanými změnami v lokomoci a PPI.

V dopaminergním modelu po aplikaci amfetaminu popisovaný zvýšený výkon v pásmu theta/alfa pravděpodobně odráží zvýšenou lokomoční aktivitu (Young 1988) nebo bdělost zvířat (Ambrosini et al. 1994). Kromě zvýšení v theta/alfa pásmu docházelo spíš k celkovému poklesu EEG výkonu – charakteristický pro serotonergní mechanismus. V EEG koherencích jsme popsali snížení EEG konektivity v nižších dávkách a zvýšení EEG konektivity ve vyšších dávkách, které pravděpodobně souvisí se zvýšenou behaviorální aktivitou a výdejem dopaminu (Maloney et al, 1997; Palenicek et al, 2011).

V glutamátergním modelu jsme potvrdili, že obě dávky ketaminu narušují PPI, přičemž pouze vyšší dávka způsobuje hyperlokomoci. Agonista mGlu2/3 nenormalizoval narušenou PPI, ale normalizoval hyperlokomoci. V rámci qEEG, ketamin v obou dávkách způsoboval zvýšení delta a gamma výkonu. Ketamin 30 mg/kg navíc zvyšoval theta až beta výkon, který pravděpodobně koreloval s hyperlokomoční aktivitou. EEG koherence se zvyšovali hlavně u vyšší dávky ketaminu. Toto zvýšení však neodpovídá diskonekční teorii SCHZ a pravděpodobně souvisí s „volně se pohybujícími“ potkany. Proto jsme se rozhodli porovnat behaviorálně aktivní a inaktivní úseky. V analýze klidových behaviorálních úseků po aplikaci ketaminu jsme našli zvýšení ve vysokofrekvenčních pásmech (gamma, beta, vysoká beta) a snížení v nízkofrekvenčních pásmech. Zcela novým poznatkem byl nález snížených EEG koherencí v klidových úsecích. Agonista mGlu2/3 normalizoval jak EEG výkon po ketaminu, tak snížení koherencí v úsecích bez behaviorální aktivity. Všechny EEG změny byly v časovém souladu s nejvyšší koncentraci ketaminu a norketaminu v mozku (tj. 10-15 min).

Na základě našich experimentů můžeme konstatovat, že každý námi použitý model může sloužit jako model psychózy. Z tohoto hlediska naše behaviorální a qEEG experimenty mohou taktéž přispět k testování potenciálních látek s antipsychotickými účinky.

10. Seznam publikací doktoranda

Publikace in extenso se vztahem k tématu disertační práce

a) s IF

Fujáková, M., Páleníček, T., Brunovský, M., Gorman, I., Tylš, F., Kubešová, A., Řípová, D., Krajča, V., Horáček, J. The effect of ((-)-2-oxa-4-aminobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid (LY379268), an mGlu2/3 receptor agonist, on EEG power spectra and coherence in ketamine model of psychosis. Pharmacol Biochem Behav 2014; 122C: 212-221. **IF (2013) 2.820**

Páleníček, T., **Fujáková, M.,** Brunovský, M., Horáček, J., Gorman, I., Balíková, M., Rambousek, L., Syslová, K., Kačer, P., Zach, P., Bubeníková-Valešová, V., Tylš, F., Kubešová, A., Puskarčíková, J., Höschl, C. Behavioral, Neurochemical and Pharmaco-EEG Profiles of the Psychedelic Drug 4-bromo-2,5-dimethoxyphenethylamine (2C-B) in Rats. Psychopharmacology (Berl) 2013; 225 (1): 75-93. **IF (2013) 3.988**

Páleníček T., **Fujáková M.,** Brunovský M.,Balíková M.,Horáček J.,Gorman I., Tylš F., Tišlerová B., Šoš P., Bubeníková-Valešová V., Höschl C., Krajča V. Electroencephalographic Spectral and Coherence Analysis of Ketamine in Rats: Correlation with Behavioral Effects and Pharmacokinetics. Neuropsychobiology, 2011; 63:202-218 **IF (2011) 2.147**

b) bez IF

Páleníček, T., **Fujáková, M.,** Tylš, F., Kubešová, A., Brunovský, M., Horáček, J. Srovnání vlivu halucinogenů psilocinu a mezkalinu na kvantitativní EEG a senzorimotorické zpracování informací - animální model psychózy. Psychiatrie 2011; 15 (suppl. 2): 44-48.

Fujáková, M., Páleníček, T., Bubeníková-Valešová, V., Horáček, J. Ketamin – klinické a experimentální využití a zneužívání. Psychiatrie, 2010; 14(1): 47-53.

Publikace in extenso bez vztahu k tématu disertační práce

a) s IF

Páleníček, T., Balíková, M., Rohanová, M., Novák, T., Horáček, J., **Fujáková, M.,** Höschl, C. Behavioral, hyperthermic and pharmacokinetic profile of para-methoxymethamphetamine (PMMA) in rats. Pharmacol Biochem Behav. 2010; **IF (2010) 2.967**

Kubesova, A., Tejkalova, H., Syslova, K., Kacer, P., Vondrousova, J., Tyls, F., **Fujakova, M.,** Palenicek, T., Horacek, J. Biochemical, histopathological and morphological profiling of a rat model of early immune stimulation: relation to psychopathology. PLoS ONE 2015; 10(1): e0115439. **IF (2013) 3.534**

Tylš F, Páleníček T, Kadeřábek L, **Lipski M,** Kubešová A, Horáček J. Sex differences and serotonergic mechanisms in the behavioural effects of psilocin. Behav Pharmacol. 2016 Jun;27(4):309-20 **IF (2015) 2.000**

Sirova J, Kristofikova Z, Vrajova M, **Fujakova-Lipski M,** Ripova D, Klaschka J, Slamberova R. Sex-Dependent Changes in Striatal Dopamine Transport in Preadolescent Rats Exposed Prenatally and/or Postnatally to Methamphetamine. Neurochem Res. 2016 Aug;41(8):1911-23. **IF (2015) 2.68**

b) bez IF

Fujáková, M., Kopeček M.: Antidepresiva - od teorie ke klinické praxi. Klin Farmakol Farm 2012; 26(1): 29-37

Nováková, P., Tylš, F., Kubešová, A., Kadeřábek, L., **Fujáková, M.,** Páleníček, T. Role kanabinoidů a kanabinoidního systému v indukci, neurobiologii a terapii psychotických onemocnění. Psychiatrie, 2014; 18(4):186-192.

11. Použitá literatura

Abi-Dargham, A., Mawlawi, O., Lombardo, I., Gil, R., Martinez, D., Huang, Y., Hwang, D.-R.,Keilp, J., Kochan, L., Van Heertum, R., Gorman, J.M., Laruelle, M (2002). Prefrontal Dopamine D1 Receptors and Working Memory in Schizophrenia. Journal of Neuroscience. Volume 22, Issue 9, 1 May

Abi-Dargham A, Xu X, Thompson JL, Gil R, Kegeles LS, Urban N, Narendran R, Hwang DR, Laruelle M, Slifstein M. (2012): Increased prefrontal cortical D_1 receptors in drug naive patients with schizophrenia: a PET study with [^{11}C]NNC112. J Psychopharmacol. Jun;26(6):794-805

Abi-Saab W, Seibyl JP, D'Souza DC, Karper LP, Gueorgueva R, bi-Dargham A, Wong ML, Rajhans S, Erdos JP, Heninger GR, Charney DS, Krystal JH (2002). Ritanserin antagonism of m-chlorophenylpiperazine effects in neuroleptic-free schizophrenics patients: support for serotonin-2 receptor modulation of schizophrenia symptoms. Psychopharmacology (Berl) 162:55-62.

Abi-Saab WM, D'Souza DC, Moghaddam B, Krystal JH (1998). The NMDA antagonist model for schizophrenia: promise and pitfalls. Pharmacopsychiatry 31 Suppl 2:104-109.

Adams LM, Geyer MA (1982). LSD-induced alterations of locomotor patterns and exploration in rats. **Psychopharmacology (Berl) 77**:179-185.

Adriano F, Caltagirone C, Spalletta G (2012). Hippocampal volume reduction in first-episode and chronic schizophrenia: a review and meta-analysis. **Neuroscientist 18**:180-200.

Aghajanian GK, Marek GJ (1999). Serotonin and hallucinogens. **Neuropsychopharmacology 21**:16S-23S.

Ahn K, Gil R, Seibyl J, Sewell RA, D'Souza DC (2011). Probing GABA receptor function in schizophrenia with iomazenil. **Neuropsychopharmacology 36**:677-683.

Akbarian S, Huntsman MM, Kim JJ, Tafazzoli A, Potkin SG, Bunney WE, Jr., Jones EG (1995). GABAA receptor subunit gene expression in human prefrontal cortex: comparison of schizophrenics and controls. **Cereb Cortex 5**:550-560.

Ambrosini MV, Gambelunghe C, Mariucci G, Bruschelli G, Adami M, Giuditta A (1994). Sleep-wake variables and EEG power spectra in Mongolian gerbils and Wistar rats. **Physiol Behav 56**:963-968.

Anand A, Charney DS, Oren DA, Berman RM, Hu XS, Cappiello A, Krystal JH (2000). Attenuation of the neuropsychiatric effects of ketamine with lamotrigine: support for hyperglutamatergic effects of N-methyl-D-aspartate receptor antagonists. **Arch Gen Psychiatry 57**:270-276.

Anand I, Sunitha TA, Khanna S (2002). Csf amines and their metabolites in first episode drug naive schizophrenic patients and their correlations with dimensions of schizophrenia. **Indian J Psychiatry 44**:212-219.

Andersson RH, Johnston A, Herman PA, Winzer-Serhan UH, Karavanova I, Vullhorst D, Fisahn A, Buonanno A (2012). Neuregulin and dopamine modulation of hippocampal gamma oscillations is dependent on dopamine D4 receptors. **Proc Natl Acad Sci U S A 109**:13118-13123.

Andreou C, Leicht G, Nolte G, Polomac N, Moritz S, Karow A, Hanganu-Opatz IL, Engel AK, Mulert C (2015). Resting-state theta-band connectivity and verbal memory in schizophrenia and in the high-risk state. **Schizophr Res 161**:299-307.

Angrist B, Gershon S (1974). Dopamine and psychotic states: preliminary remarks. **Adv Biochem Psychopharmacol 12**:211-219.

Anticevic A, Haut K, Murray JD, Repovs G, Yang GJ, Diehl C, McEwen SC, Bearden CE, Addington J, Goodyear B, Cadenhead KS, Mirzakhanian H, Cornblatt BA, Olvet D, Mathalon DH, McGlashan TH, Perkins DO, Belger A, Seidman LJ, Tsuang MT, van Erp TG, Walker EF, Hamann S, Woods SW, Qiu M, Cannon TD

(2015). Association of Thalamic Dysconnectivity and Conversion to Psychosis in Youth and Young Adults at Elevated Clinical Risk. **JAMA Psychiatry 72**:882-891.

Anwyl R (1999). Metabotropic glutamate receptors: electrophysiological properties and role in plasticity. **Brain Res Brain Res Rev 29**:83-120.

Arnone D, McIntosh AM, Tan GM, Ebmeier KP (2008). Meta-analysis of magnetic resonance imaging studies of the corpus callosum in schizophrenia. **Schizophr Res 101**:124-132.

Bachman P, Kim J, Yee CM, Therman S, Manninen M, Lonnqvist J, Kaprio J, Huttunen MO, Naatanen R, Cannon TD (2008). Abnormally high EEG alpha synchrony during working memory maintenance in twins discordant for schizophrenia. **Schizophr Res 103**:293-297.

Baldeweg T, Spence S, Hirsch SR, Gruzelier J (1998). Gamma-band electroencephalographic oscillations in a patient with somatic hallucinations. **Lancet 352**:620-621.

Balu DT, Coyle JT (2015). The NMDA receptor 'glycine modulatory site' in schizophrenia: D-serine, glycine, and beyond. **Curr Opin Pharmacol 20**:109-115.

Barch DM, Ceaser A (2012). Cognition in schizophrenia: core psychological and neural mechanisms. **Trends Cogn Sci 16**:27-34.

Barr MS, Farzan F, Tran LC, Chen R, Fitzgerald PB, Daskalakis ZJ (2010). Evidence for excessive frontal evoked gamma oscillatory activity in schizophrenia during working memory. **Schizophr Res 121**:146-152.

Bartos M, Vida I, Jonas P (2007). Synaptic mechanisms of synchronized gamma oscillations in inhibitory interneuron networks. **Nat Rev Neurosci 8**:45-56.

Basar-Eroglu C, Demiralp T (2001). Event-related theta oscillations: an integrative and comparative approach in the human and animal brain. **Int J Psychophysiol 39**:167-195.

Basar-Eroglu C, Brand A, Hildebrandt H, Karolina KK, Mathes B, Schmiedt C (2007). Working memory related gamma oscillations in schizophrenia patients. **Int J Psychophysiol 64** :39-45.

Basar E, Basar-Eroglu C, Karakas S, Schurmann M (2000). Brain oscillations in perception and memory. **Int J Psychophysiol 35**:95-124.

Basar E, Basar-Eroglu C, Karakas S, Schurmann M (2001). Gamma, alpha, delta, and theta oscillations govern cognitive processes. **Int J Psychophysiol 39**:241-248.

Basar E, Guntekin B (2008). A review of brain oscillations in cognitive disorders and the role of neurotransmitters. **Brain Res 1235**:172-193.

Basar E (2013). Brain oscillations in neuropsychiatric disease. **Dialogues Clin Neurosci 15**:291-300.

Basar E, Guntekin B (2013). Review of delta, theta, alpha, beta, and gamma response oscillations in neuropsychiatric disorders. **Suppl Clin Neurophysiol 62**:303-341.

Belforte JE, Zsiros V, Sklar ER, Jiang Z, Yu G, Li Y, Quinlan EM, Nakazawa K (2010). Postnatal NMDA receptor ablation in corticolimbic interneurons confers schizophrenia-like phenotypes. **Nat Neurosci 13**:76-83.

Belujon P, Patton MH, Grace AA (2013). Disruption of prefrontal cortical-hippocampal balance in a developmental model of schizophrenia: reversal by sulpiride. **Int J Neuropsychopharmacol 16**:507-512.

Belujon P, Patton MH, Grace AA (2014). Role of the prefrontal cortex in altered hippocampal-accumbens synaptic plasticity in a developmental animal model of schizophrenia. **Cereb Cortex 24**:968-977.

Benes FM, Lim B, Matzilevich D, Walsh JP, Subburaju S, Minns M (2007). Regulation of the GABA cell phenotype in hippocampus of schizophrenics and bipolars. **Proc Natl Acad Sci U S A 104**:10164-10169.

Billingslea EN, Tatard-Leitman VM, Anguiano J, Jutzeler CR, Suh J, Saunders JA, Morita S, Featherstone RE, Ortinski PI, Gandal MJ, Lin R, Liang Y, Gur RE, Carlson GC, Hahn CG, Siegel SJ (2014). Parvalbumin cell ablation of NMDA-R1 causes increased resting network excitability with associated social and self-care deficits. **Neuropsychopharmacology 39**:1603-1613.

Bioque M, Garcia-Bueno B, Macdowell KS, Meseguer A, Saiz PA, Parellada M, Gonzalez-Pinto A, Rodriguez-Jimenez R, Lobo A, Leza JC, Bernardo M (2013). Peripheral endocannabinoid system dysregulation in first-episode psychosis. **Neuropsychopharmacology 38**:2568-2577.

Bland BH, Oddie SD (2001). Theta band oscillation and synchrony in the hippocampal formation and associated structures: the case for its role in sensorimotor integration. **Behav Brain Res 127**:119-136.

Bleuler E. (1911/1950): **Dementia praecox or the group of schizophrenias**. Translated by J. Zinkin. New York:International Universities Press, Inc.

Bluhm RL, Miller J, Lanius RA, Osuch EA, Boksman K, Neufeld RW, Theberge J, Schaefer B, Williamson P (2007). Spontaneous low-frequency fluctuations in the BOLD signal in schizophrenic patients: anomalies in the default network. **Schizophr Bull 33**:1004-1012.

Blum BP, Mann JJ (2002). The GABAergic system in schizophrenia. **Int J Neuropsychopharmacol 5**:159-179.

Bourin M, Petit-Demouliere B, Dhonnchadha BN, Hascoet M (2007). Animal models of anxiety in mice. **Fundam Clin Pharmacol 21**:567-574.

Boutros NN (1999). Electrophysiology: inexpensive brain probing. **CNS Spectr 4**:16.

Boutros NN, Arfken C, Galderisi S, Warrick J, Pratt G, Iacono W (2008). The status of spectral EEG abnormality as a diagnostic test for schizophrenia. **Schizophr Res 99**:225-237.

Boutros NN, Mucci A, Vignapiano A, Galderisi S (2014). Electrophysiological aberrations associated with negative symptoms in schizophrenia. **Curr Top Behav Neurosci 21**:129-156.

Brandon NJ, Sawa A (2011). Linking neurodevelopmental and synaptic theories of mental illness through DISC1. **Nat Rev Neurosci 12**:707-722.

Breier A, Su TP, Saunders R, Carson RE, Kolachana BS, de BA, Weinberger DR, Weisenfeld N, Malhotra AK, Eckelman WC, Pickar D (1997). Schizophrenia is associated with elevated amphetamine-induced synaptic dopamine concentrations: evidence from a novel positron emission tomography method. **Proc Natl Acad Sci U S A 94**:2569-2574.

Broberg BV, Oranje B, Glenthoj BY, Fejgin K, Plath N, Bastlund JF (2010). Assessment of auditory sensory processing in a neurodevelopmental animal model of schizophrenia--gating of auditory-evoked potentials and prepulse inhibition. **Behav Brain Res 213**:142-147.

Bronson ME, Jiang W, DeRuiter J, Clark CR (1995). A behavioral comparison of Nexus, cathinone, BDB, and MDA. **Pharmacol Biochem Behav 51**:473-475.

Brown AS, Derkits EJ (2010). Prenatal infection and schizophrenia: a review of epidemiologic and translational studies. **Am J Psychiatry 167**:261-280.

Brown AS, Derkits EJ (2010). Prenatal infection and schizophrenia: a review of epidemiologic and translational studies. **Am J Psychiatry 167**:261-280.

Brown JT, Davies CH, Randall AD (2007). Synaptic activation of GABA(B) receptors regulates neuronal network activity and entrainment. **Eur J Neurosci 25**:2982-2990.

Buckley PF (2005). Second-generation antipsychotic medications in the treatment of mood disorders: focus on aripiprazole. **Drugs Today (Barc) 41**:5-11.

Buschman TJ, Miller EK (2007). Top-down versus bottom-up control of attention in the prefrontal and posterior parietal cortices. **Science 315**:1860-1862.

Butelman ER, Kreek MJ.(2015) Salvinorin A, a kappa-opioid receptor agonist hallucinogen: pharmacology and potential template for novel pharmacotherapeutic agents in neuropsychiatric disorders. Front Pharmacol. Sep 8;6:190

Buzsaki G, Horvath Z, Urioste R, Hetke J, Wise K (1992). High-frequency network oscillation in the hippocampus. **Science 256**:1025-1027.

Buzsaki G (2002). Theta oscillations in the hippocampus. **Neuron 33**:325-340.

Buzsaki G, Draguhn A (2004). Neuronal oscillations in cortical networks. **Science 304**:1926-1929.

Canal CE, Morgan D (2012). Head-twitch response in rodents induced by the hallucinogen 2,5-dimethoxy-4-iodoamphetamine: a comprehensive history, a re-evaluation of mechanisms, and its utility as a model. **Drug Test Anal 4**:556-576.

Canetta SE, Brown AS (2012). PRENATAL INFECTION, MATERNAL IMMUNE ACTIVATION, AND RISK FOR SCHIZOPHRENIA. **Transl Neurosci 3**:320-327.

Canolty RT, Edwards E, Dalal SS, Soltani M, Nagarajan SS, Kirsch HE, Berger MS, Barbaro NM, Knight RT (2006). High gamma power is phase-locked to theta oscillations in human neocortex. **Science 313**:1626-1628.

Carhart-Harris RL1, Leech R, Erritzoe D, Williams TM, Stone JM, Evans J, Sharp DJ, Feilding A, Wise RG, Nutt DJ. (2013) Functional connectivity measures after psilocybin inform a novel hypothesis of early psychosis. Schizophr Bull**.** Nov;39(6):1343-51

Carlen M, Meletis K, Siegle JH, Cardin JA, Futai K, Vierling-Claassen D, Ruhlmann C, Jones SR, Deisseroth K, Sheng M, Moore CI, Tsai LH (2012). A critical role for NMDA receptors in parvalbumin interneurons for gamma rhythm induction and behavior. **Mol Psychiatry 17**:537-548.

Carpenter WT, Jr., Buchanan RW, Kirkpatrick B, Breier AF (1999). Diazepam treatment of early signs of exacerbation in schizophrenia. **Am J Psychiatry 156**:299-303.

Cartmell J, Schoepp DD (2000). Regulation of neurotransmitter release by metabotropic glutamate receptors. **J Neurochem 75**:889-907.

Chambers RA, Sentir AM, Engleman EA.(2010) Ventral and dorsal striatal dopamine efflux and behavior in rats with simple vs. co-morbid histories of cocaine sensitization and neonatal ventral hippocampal lesions. Psychopharmacology (Berl). 212(1):73-83.

Chaki S (2010). Group II metabotropic glutamate receptor agonists as a potential drug for schizophrenia. **Eur J Pharmacol 639**:59-66.

Cho RY, Konecky RO, Carter CS (2006). Impairments in frontal cortical gamma synchrony and cognitive control in schizophrenia. **Proc Natl Acad Sci U S A 103**:19878-19883.

Clementz BA, Sponheim SR, Iacono WG, Beiser M (1994). Resting EEG in first-episode schizophrenia patients, bipolar psychosis patients, and their first-degree relatives. **Psychophysiology 31**:486-494.

Cochran SM, Kennedy M, McKerchar CE, Steward LJ, Pratt JA, Morris BJ.(2003). Induction of metabolic hypofunction and neurochemical deficits after chronic intermittent exposure to phencyclidine: differential modulation by antipsychotic drugs. Neuropsychopharmacology. Feb;28(2):265-75.

Csicsvari J, Hirase H, Czurko A, Mamiya A, Buzsaki G (1999). Fast network oscillations in the hippocampal CA1 region of the behaving rat. **J Neurosci 19**:RC20.

cuna-Castillo C, Villalobos C, Moya PR, Saez P, Cassels BK, Huidobro-Toro JP (2002). Differences in potency and efficacy of a series of phenylisopropylamine/phenylethylamine pairs at 5-HT(2A) and 5-HT(2C) receptors. **Br J Pharmacol 136**:510-519.

D'Souza DC, Perry E, Macdougall L, Ammerman Y, Cooper T, Wu YT, Braley G, Gueorguieva R, Krystal JH (2004). The psychotomimetic effects of intravenous delta-9-tetrahydrocannabinol in healthy individuals: implications for psychosis. **Neuropsychopharmacology 29**:1558-1572.

D'Souza DC, Gil RB, Zuzarte E, MacDougall LM, Donahue L, Ebersole JS, Boutros NN, Cooper T, Seibyl J, Krystal JH (2006). gamma-Aminobutyric acid-serotonin interactions in healthy men: implications for network models of psychosis and dissociation. **Biol Psychiatry 59**:128-137.

Dajas F, Barbeito L, Martinez-Pesquera G, Lista A, Puppo D, Puppo-Touriz H (1983). Plasma noradrenaline and clinical psychopathology in schizophrenia. A correlation analysis. **Neuropsychobiology 10**:70-74.

Davis CE, Jeste DV, Eyler LT (2005). Review of longitudinal functional neuroimaging studies of drug treatments in patients with schizophrenia. **Schizophr Res 78**:45-60.

Davis KL, Kahn RS, Ko G, Davidson M (1991). Dopamine in schizophrenia: a review and reconceptualization. **Am J Psychiatry 148**:1474-1486.

Dawson N, McDonald M, Higham DJ, Morris BJ, Pratt JA (2014). Subanesthetic ketamine treatment promotes abnormal interactions between neural subsystems and alters the properties of functional brain networks. **Neuropsychopharmacology 39**:1786-1798.

Dawson N, Thompson RJ, McVie A, Thomson DM, Morris BJ, Pratt JA.(2012). Modafinil reverses phencyclidine-induced deficits in cognitive flexibility, cerebral metabolism, and functional brain connectivity. Schizophr Bull. May;38(3):457-74.

Dayan P, Huys QJ (2008). Serotonin, inhibition, and negative mood. **PLoS Comput Biol 4**:e4.

de lF-S, Leon-Ortiz P, Azcarraga M, Stephano S, Favila R, az-Galvis L, varado-Alanis P, Ramirez-Bermudez J, Graff-Guerrero A (2013). Glutamate levels in the associative striatum before and after 4 weeks of antipsychotic treatment in first-episode psychosis: a longitudinal proton magnetic resonance spectroscopy study. **JAMA Psychiatry 70**:1057-1066.

De MN, De PL, Orlando P, Daniele F, Fezza F, Di M, V (2003). Endocannabinoid signalling in the blood of patients with schizophrenia. **Lipids Health Dis 2**:5.

De P, V, Ray WJ (1998). Effects of memory load on event-related patterns of 40-Hz EEG during cognitive and motor tasks. **Int J Psychophysiol 28**:301-315.

Deakin JF, Lees J, McKie S, Hallak JE, Williams SR, Dursun SM (2008). Glutamate and the neural basis of the subjective effects of ketamine: a pharmaco-magnetic resonance imaging study. **Arch Gen Psychiatry 65**:154-164.

Deutch AY, Cameron DS (1992). Pharmacological characterization of dopamine systems in the nucleus accumbens core and shell. **Neuroscience 46**:49-56.

Di LG, Daverio A, Ferrentino F, Santarnecchi E, Ciabattini F, Monaco L, Lisi G, Barone Y, Di LC, Niolu C, Seri S, Siracusano A (2015). Altered resting-state EEG source functional connectivity in schizophrenia: the effect of illness duration. **Front Hum Neurosci 9**:234.

Diaconescu AO, Jensen J, Wang H, Willeit M, Menon M, Kapur S, McIntosh AR (2011). Aberrant Effective Connectivity in Schizophrenia Patients during Appetitive Conditioning. **Front Hum Neurosci 4**:239.

Dickerson DD, Restieaux AM, Bilkey DK (2012). Clozapine administration ameliorates disrupted long-range synchrony in a neurodevelopmental animal model of schizophrenia. **Schizophr Res 135**:112-115.

Dimpfel W, Spuler M, Nichols DE (1989). Hallucinogenic and stimulatory amphetamine derivatives: fingerprinting DOM, DOI, DOB, MDMA, and MBDB by spectral analysis of brain field potentials in the freely moving rat (Tele-Stereo-EEG). **Psychopharmacology (Berl) 98**:297-303.

Dimpfel W (2007). Characterization of atypical antipsychotic drugs by a late decrease of striatal alpha1 spectral power in the electropharmacogram of freely moving rats. **Br J Pharmacol 152**:538-548.

Doege K, Bates AT, White TP, Das D, Boks MP, Liddle PF (2009). Reduced event-related low frequency EEG activity in schizophrenia during an auditory oddball task. **Psychophysiology 46**:566-577.

Doege K, Kumar M, Bates AT, Das D, Boks MP, Liddle PF (2010). Time and frequency domain event-related electrical activity associated with response control in schizophrenia. **Clin Neurophysiol 121**:1760-1771.

Donkers FC, Schwikert SR, Evans AM, Cleary KM, Perkins DO, Belger A (2011). Impaired neural synchrony in the theta frequency range in adolescents at familial risk for schizophrenia. **Front Psychiatry 2**:51.

Driesen NR, Leung HC, Calhoun VD, Constable RT, Gueorguieva R, Hoffman R, Skudlarski P, Goldman-Rakic PS, Krystal JH (2008). Impairment of working memory maintenance and response in schizophrenia: functional magnetic resonance imaging evidence. **Biol Psychiatry 64**:1026-1034.

Driesen NR, McCarthy G, Bhagwagar Z, Bloch M, Calhoun V, D'Souza DC, Gueorguieva R, He G, Ramachandran R, Suckow RF, Anticevic A, Morgan PT, Krystal JH (2013). Relationship of resting brain hyperconnectivity and schizophrenia-like symptoms produced by the NMDA receptor antagonist ketamine in humans. **Mol Psychiatry 18**:1199-1204.

Dursun SM, Szemis A, Andrews H, Whitaker P, Reveley MA (2000). Effects of clozapine and typical antipsychotic drugs on plasma 5-HT turnover and impulsivity in patients with schizophrenia: a cross-sectional study. **J Psychiatry Neurosci 25**:347-352.

Dworak M, McCarley RW, Kim T, Basheer R (2011). Delta oscillations induced by ketamine increase energy levels in sleep-wake related brain regions. **Neuroscience 197**:72-79.

Dzirasa, K., Ramsey, A.J., Takahashi, D.Y., Stapleton, J., Potes, J.M., Williams, J.K., Gainetdinov, R.R., Sameshima, K., Caron, M.G., Nicolelis, M.A., 2009. Hyperdopaminergia and NMDA receptor hypofunction disrupt neural phase signaling. J. Neurosci. 29, 8215e8224.

Ellison-Wright I, Bullmore E (2009). Meta-analysis of diffusion tensor imaging studies in schizophrenia. **Schizophr Res 108**:3-10.

Endo K, Hori T, Abe S, Asada T.(2007) Alterations in GABA(A) receptor expression in neonatal ventral hippocampal lesioned rats: comparison of prepubertal and postpubertal periods. Synapse. 61(6):357-66.

Engel AK, Fries P (2010). Beta-band oscillations--signalling the status quo? **Curr Opin Neurobiol 20**:156-165.

Everson CA, Bergmann BM, Rechtschaffen A (1989). Sleep deprivation in the rat: III. Total sleep deprivation. **Sleep 12**:13-21.

Everson CA, Gilliland MA, Kushida CA, Pilcher JJ, Fang VS, Refetoff S, Bergmann BM, Rechtschaffen A (1989). Sleep deprivation in the rat: IX. Recovery. **Sleep 12**:60-67.

Fanselow MS, Dong HW.(2010). Are the dorsal and ventral hippocampus functionally distinct structures? Neuron. 2010 Jan 14;65(1):7-19.

Farzan F, Barr MS, Levinson AJ, Chen R, Wong W, Fitzgerald PB, Daskalakis ZJ (2010). Evidence for gamma inhibition deficits in the dorsolateral prefrontal cortex of patients with schizophrenia. **Brain 133**:1505-1514.

Fatemi SH, Folsom TD (2009). The neurodevelopmental hypothesis of schizophrenia, revisited. **Schizophr Bull 35**:528-548.

Featherstone RE, Rizos Z, Kapur S, Fletcher PJ (2008). A sensitizing regimen of amphetamine that disrupts attentional set-shifting does not disrupt working or long-term memory. **Behav Brain Res 189**:170-179.

Fehr T, Kissler J, Moratti S, Wienbruch C, Rockstroh B, Elbert T (2001). Source distribution of neuromagnetic slow waves and MEG-delta activity in schizophrenic patients. **Biol Psychiatry 50**:108-116.

Fehr T, Kissler J, Wienbruch C, Moratti S, Elbert T, Watzl H, Rockstroh B (2003). Source distribution of neuromagnetic slow-wave activity in schizophrenic patients--effects of activation. **Schizophr Res 63**:63-71.

Feinberg I, Schoepp DD, Hsieh KC, Darchia N, Campbell IG (2005). The metabotropic glutamate (mGLU)2/3 receptor antagonist LY341495 [2S-2-amino-2-(1S,2S-2-carboxycyclopropyl-1-yl)-3-(xanth-9-yl)propanoic acid] stimulates waking and fast electroencephalogram power and blocks the effects of the mGLU2/3 receptor agonist ly379268 [(-)-2-oxa-4-aminobicyclo[3.1.0]hexane-4,6-dicarboxylate] in rats. **J Pharmacol Exp Ther 312**:826-833.

Fell J, Klaver P, Lehnertz K, Grunwald T, Schaller C, Elger CE, Fernandez G (2001). Human memory formation is accompanied by rhinal-hippocampal coupling and decoupling. **Nat Neurosci 4**:1259-1264.

Ferrarelli F, Massimini M, Peterson MJ, Riedner BA, Lazar M, Murphy MJ, Huber R, Rosanova M, Alexander AL, Kalin N, Tononi G (2008). Reduced evoked gamma oscillations in the frontal cortex in schizophrenia patients: a TMS/EEG study. **Am J Psychiatry 165**:996-1005.

Fingelkurts AA, Fingelkurts AA, Kahkonen S (2005). New perspectives in pharmaco-electroencephalography. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 29**:193-199.

Ford JM, Mathalon DH, Whitfield S, Faustman WO, Roth WT (2002). Reduced communication between frontal and temporal lobes during talking in schizophrenia. **Biol Psychiatry 51**:485-492.

Ford JM, Krystal JH, Mathalon DH (2007). Neural synchrony in schizophrenia: from networks to new treatments. **Schizophr Bull 33**:848-852.

Ford JM, Mathalon DH (2008). Neural synchrony in schizophrenia. **Schizophr Bull 34**:904-906.

Ford JM, Roach BJ, Faustman WO, Mathalon DH (2008). Out-of-synch and out-of-sorts: dysfunction of motor-sensory communication in schizophrenia. **Biol Psychiatry 63**:736-743.

Ford M. R., Goethe J. W. and Dekker D. K. EEG coherence and power in the discrimination of psychiatric disorders and medication effects. **Biol.Psychiatry** 21 (12):1175-1188, 1986.

Foxe JJ, Snyder AC (2011). The Role of Alpha-Band Brain Oscillations as a Sensory Suppression Mechanism during Selective Attention. **Front Psychol 2**:154.

Francois J, Ferrandon A, Koning E, Angst MJ, Sandner G, Nehlig A (2009). Selective reorganization of GABAergic transmission in neonatal ventral hippocampal-lesioned rats. **Int J Neuropsychopharmacol 12**:1097-1110.

Freedman R (2014). alpha7-nicotinic acetylcholine receptor agonists for cognitive enhancement in schizophrenia. **Annu Rev Med 65**:245-261.

Friston KJ, Frith CD (1995). Schizophrenia: a disconnection syndrome? **Clin Neurosci 3**:89-97.

Friston KJ (1998). The disconnection hypothesis. **Schizophr Res 30**:115-125.

Friston KJ (2011). Functional and effective connectivity: a review. **Brain Connect 1**:13-36.

Frohlich J, Van Horn JD: Reviewing the ketamine model for schizophrenia. J. Psychopharmacol, 2014

Fujakova,M, Palenicek,T, Tyls,F, Kubesova,A, Brunovsky,M, Krajca,V, Horacek,J. The effect of phenylethylamine hallucinogens on quantitative electroencephalography and behavior in rats . **Behav Pharmacol** 22, 38. 2011. ABSTRAKT

Fujakova M, Palenicek T, Brunovsky M, Gorman I, Tyls F, Kubesova A, Ripova D, Krajca V, Horacek J (2014). The effect of ((-)-2-oxa-4-aminobicyclo[3.1.0]hexane-2,6-dicarboxylic acid (LY379268), an mGlu2/3 receptor agonist, on EEG power spectra and coherence in ketamine model of psychosis. **Pharmacol Biochem Behav 122**:212-221.

Fujimoto T, Okumura E, Takeuchi K, Kodabashi A, Otsubo T, Nakamura K, Kamiya S, Higashi Y, Yuji T, Honda K, Shimooki S, Tamura T (2013). Dysfunctional cortical connectivity during the auditory oddball task in patients with schizophrenia. **Open Neuroimag J 7**:15-26.

Galarreta M, Hestrin S (1999). A network of fast-spiking cells in the neocortex connected by electrical synapses. **Nature 402**:72-75.

Galderisi S, Mucci A, Bucci P, Mignone ML, Maj M (1996). Multilead quantitative EEG profile of clozapine in resting and vigilance-controlled conditions. **Psychiatry Res 67**:113-122.

Galici R, Echemendia NG, Rodriguez AL, Conn PJ (2005). A selective allosteric potentiator of metabotropic glutamate (mGlu) 2 receptors has effects similar to an orthosteric mGlu2/3 receptor agonist in mouse models predictive of antipsychotic activity. **J Pharmacol Exp Ther 315**:1181-1187.

Gallinat J, Winterer G, Herrmann CS, Senkowski D (2004). Reduced oscillatory gamma-band responses in unmedicated schizophrenic patients indicate impaired frontal network processing. **Clin Neurophysiol 115**:1863-1874.

Gandal MJ, Sisti J, Klook K, Ortinski PI, Leitman V, Liang Y, Thieu T, Anderson R, Pierce RC, Jonak G, Gur RE, Carlson G, Siegel SJ (2012). GABAB-mediated rescue of altered excitatory-inhibitory balance, gamma synchrony and behavioral deficits following constitutive NMDAR-hypofunction. **Transl Psychiatry 2**:e142.

Gass N, Schwarz AJ, Sartorius A, Schenker E, Risterucci C, Spedding M, Zheng L, Meyer-Lindenberg A, Weber-Fahr W.(2014). Sub-anesthetic ketamine modulates intrinsic BOLD connectivity within the hippocampal-prefrontal circuit in the rat. Neuropsychopharmacology. 2014 Mar;39(4):895-906.

Gazzaley A, Nobre AC (2012). Top-down modulation: bridging selective attention and working memory. **Trends Cogn Sci 16**:129-135.

Gentry WB, Ghafoor AU, Wessinger WD, Laurenzana EM, Hendrickson HP, Owens SM (2004). (+)-Methamphetamine-induced spontaneous behavior in rats depends on route of (+)METH administration. **Pharmacol Biochem Behav 79**:751-760.

Geyer MA, Light RK, Rose GJ, Petersen LR, Horwitt DD, Adams LM, Hawkins RL (1979). A characteristic effect of hallucinogens on investigatory responding in rats. **Psychopharmacology (Berl) 65**:35-40.

Geyer MA, Krebs-Thomson K, Braff DL, Swerdlow NR (2001). Pharmacological studies of prepulse inhibition models of sensorimotor gating deficits in schizophrenia: a decade in review. **Psychopharmacology (Berl) 156**:117-154.

Geyer MA, Vollenweider FX (2008). Serotonin research: contributions to understanding psychoses. **Trends Pharmacol Sci 29**:445-453.

Gillies MJ, Traub RD, LeBeau FE, Davies CH, Gloveli T, Buhl EH, Whittington MA.(2002). A model of atropine-resistant theta oscillations in rat hippocampal area CA1. J Physiol. 2002 Sep 15;543(Pt 3):779-93.

Glahn DC, Ragland JD, Abramoff A, Barrett J, Laird AR, Bearden CE, Velligan DI (2005). Beyond hypofrontality: a quantitative meta-analysis of functional neuroimaging studies of working memory in schizophrenia. **Hum Brain Mapp 25**:60-69.

Goldman-Rakic P.S, Muly E.C, III, Williams G.V: D1 receptors in prefrontal cells and circuits. **Brain Research Reviews.** Volume 31, Issues 2–3, March 2000

Gonzalez-Burgos G, Lewis DA (2008). GABA neurons and the mechanisms of network oscillations: implications for understanding cortical dysfunction in schizophrenia. **Schizophr Bull 34**:944-961.

Gonzalez-Maeso J, Sealfon SC (2009). Psychedelics and schizophrenia. **Trends Neurosci 32**:225-232.

Guidotti A, Auta J, Davis JM, Di-Giorgi-Gerevini V, Dwivedi Y, Grayson DR, Impagnatiello F, Pandey G, Pesold C, Sharma R, Uzunov D, Costa E (2000). Decrease in reelin and glutamic acid decarboxylase67 (GAD67) expression in schizophrenia and bipolar disorder: a post-mortem brain study. **Arch Gen Psychiatry 57**:1061-1069.

guilar-Valles A, Flores C, Luheshi GN (2010). Prenatal inflammation-induced hypoferremia alters dopamine function in the adult offspring in rat: relevance for schizophrenia. **PLoS One 5**:e10967.

Haegens S, Cousijn H, Wallis G, Harrison PJ, Nobre AC (2014). Inter- and intra-individual variability in alpha peak frequency. **Neuroimage 92**:46-55.

Haenschel C, Linden D (2011). Exploring intermediate phenotypes with EEG: working memory dysfunction in schizophrenia. **Behav Brain Res 216**:481-495.

Hajos M, Hoffmann WE, Weaver RJ (2003). Regulation of septo-hippocampal activity by 5-hydroxytryptamine(2C) receptors. **J Pharmacol Exp Ther 306**:605-615.

Hakami T, Jones NC, Tolmacheva EA, Gaudias J, Chaumont J, Salzberg M, O'Brien TJ, Pinault D (2009). NMDA receptor hypofunction leads to generalized and persistent aberrant gamma oscillations independent of hyperlocomotion and the state of consciousness. **PLoS One 4**:e6755.

Hashimoto T, Volk DW, Eggan SM, Mirnics K, Pierri JN, Sun Z, Sampson AR, Lewis DA (2003). Gene expression deficits in a subclass of GABA neurons in the prefrontal cortex of subjects with schizophrenia. **J Neurosci 23**:6315-6326.

Hashimoto T, Bazmi HH, Mirnics K, Wu Q, Sampson AR, Lewis DA (2008). Conserved regional patterns of GABA-related transcript expression in the neocortex of subjects with schizophrenia. **Am J Psychiatry 165**:479-489.

Haydar SN and Dunlop J. (2010). Neuronal nicotinic acetylcholine receptors - targets for the development of drugs to treat cognitive impairment associated with schizophrenia and Alzheimer's disease. **Curr Top Med Chem**. 2010;10(2):144-52.

Hendry SH, Schwark HD, Jones EG, Yan J (1987). Numbers and proportions of GABA-immunoreactive neurons in different areas of monkey cerebral cortex. **J Neurosci 7**:1503-1519.

Herrmann CS, Demiralp T (2005). Human EEG gamma oscillations in neuropsychiatric disorders. **Clin Neurophysiol 116**:2719-2733.

Higashima M, Tsukada T, Nagasawa T, Oka T, Okamoto T, Okamoto Y, Koshino Y (2007). Reduction in event-related alpha attenuation during performance of an auditory oddball task in schizophrenia. **Int J Psychophysiol 65**:95-102.

Hill AL, Sun B, Karagianis JL, Watson SB, McDonnell DP (2011). Dose-associated changes in safety and efficacy parameters observed in a 24-week maintenance trial of olanzapine long-acting injection in patients with schizophrenia. **BMC Psychiatry 11**:28.

Hiyoshi T, Kambe D, Karasawa J, Chaki S (2014). Differential effects of NMDA receptor antagonists at lower and higher doses on basal gamma band oscillation power in rat cortical electroencephalograms. **Neuropharmacology 85**:384-396.

Ho BC, Wassink TH, Ziebell S, Andreasen NC (2011). Cannabinoid receptor 1 gene polymorphisms and marijuana misuse interactions on white matter and cognitive deficits in schizophrenia. **Schizophr Res 128**:66-75.

Homayoun H, Moghaddam B (2007). NMDA receptor hypofunction produces opposite effects on prefrontal cortex interneurons and pyramidal neurons. **J Neurosci 27**:11496-11500.

Hong LE, Summerfelt A, McMahon R, Adami H, Francis G, Elliott A, Buchanan RW, Thaker GK (2004). Evoked gamma band synchronization and the liability for schizophrenia. **Schizophr Res 70**:293-302.

Hong LE, Summerfelt A, Buchanan RW, O'Donnell P, Thaker GK, Weiler MA, Lahti AC (2010). Gamma and delta neural oscillations and association with clinical symptoms under subanesthetic ketamine. **Neuropsychopharmacology 35**:632-640.

Hoptman MJ, Zuo XN, D'Angelo D, Mauro CJ, Butler PD, Milham MP, Javitt DC (2012). Decreased interhemispheric coordination in schizophrenia: a resting state fMRI study. **Schizophr Res 141**:1-7.

Horacek J. (**2005)** Neurobiologie působení halucinogenních látek. **Adiktologie August, 5(2), 134-150**

Horacek J, Bubenikova-Valesova V, Kopecek M, Palenicek T, Dockery C, Mohr P, Hoschl C (2006). Mechanism of action of atypical antipsychotic drugs and the neurobiology of schizophrenia. **CNS Drugs 20**:389-409.

Howard MW, Rizzuto DS, Caplan JB, Madsen JR, Lisman J, schenbrenner-Scheibe R, Schulze-Bonhage A, Kahana MJ (2003). Gamma oscillations correlate with working memory load in humans. **Cereb Cortex 13**:1369-1374.

Howes O.D., Kambeitz J, Kim E., Stahl D., Slifstein M. Abi-Dargham A, et al. The nature of dopamine dysfunction in schizophrenia and what this means for treatment. **Arch Gen Psychiatry**, 69 (2012), pp. 776–786

Hubl D, Kleinlogel H, Frolich L, Weinandi T, Maurer K, Holstein W, Czekalla J, Dierks T (2001). Multilead quantitative electroencephalogram profile and cognitive evoked potentials (P300) in healthy subjects after a single dose of olanzapine. **Psychopharmacology (Berl) 158**:281-288.

Hunt MJ, Raynaud B, Garcia R (2006). Ketamine dose-dependently induces high-frequency oscillations in the nucleus accumbens in freely moving rats. Biol Psychiatry 60: 1206–1214.

Hustveit O1, Maurset A, Oye I.(1995) Interaction of the chiral forms of ketamine with opioid, phencyclidine, sigma and muscarinic receptors. Pharmacol Toxicol. Dec;77(6):355-9.

Ishiguro H, Horiuchi Y, Ishikawa M, Koga M, Imai K, Suzuki Y, Morikawa M, Inada T et al (2010) Brain cannabinoid CB2 receptor in schizophrenia. Biol Psychiatry 67:974–982

Imre G, Salomons A, Jongsma M, Fokkema DS, Den Boer JA, Ter Horst GJ (2006). Effects of the mGluR2/3 agonist LY379268 on ketamine-evoked behaviours and neurochemical changes in the dentate gyrus of the rat. **Pharmacol Biochem Behav 84**:392-399.

Jacobs J, Hwang G, Curran T, Kahana MJ (2006). EEG oscillations and recognition memory: theta correlates of memory retrieval and decision making. **Neuroimage 32**:978-987.

Javitt DC, Zukin SR (1990). The role of excitatory amino acids in neuropsychiatric illness. **J Neuropsychiatry Clin Neurosci 2**:44-52.

Jensen O andTesche CD.(2002). Frontal theta activity in humans increases with memory load in a working memory task. Eur J Neurosci. 2002 Apr;15(8):1395-9.

Jentsch JD, Roth RH (1999). The neuropsychopharmacology of phencyclidine: from NMDA receptor hypofunction to the dopamine hypothesis of schizophrenia. **Neuropsychopharmacology 20**:201-225.

Jetha MK, Schmidt LA, Goldberg JO (2009). Long-term stability of resting frontal EEG alpha asymmetry and power in a sample of stable community outpatients with schizophrenia. **Int J Psychophysiol 72**:228-233.

Johnston A, McBain CJ, Fisahn A (2014). 5-Hydroxytryptamine1A receptor-activation hyperpolarizes pyramidal cells and suppresses hippocampal gamma oscillations via Kir3 channel activation. **J Physiol 592**:4187-4199.

Jones CA, Watson DJ, Fone KC (2011). Animal models of schizophrenia. **Br J Pharmacol 164**:1162-1194.

Jones NC, Reddy M, Anderson P, Salzberg MR, O'Brien TJ, Pinault D (2012). Acute administration of typical and atypical antipsychotics reduces EEG gamma power, but only the preclinical compound LY379268 reduces the ketamine-induced rise in gamma power. **Int J Neuropsychopharmacol 15**:657-668.

Kahn RS, Keefe RS (2013). Schizophrenia is a cognitive illness: time for a change in focus. **JAMA Psychiatry 70**:1107-1112.

Kahn RS1, Davidson M, Knott P, Stern RG, Apter S, Davis KL.: Effect of neuroleptic medication on cerebrospinal fluid monoamine metabolite concentrations in schizophrenia. Serotonin-dopamine interactions as a target for treatment. **Arch Gen Psychiatry**. 1993 Aug;50(8):599-605.

Kalgutkar AS, Dalvie DK, Castagnoli N, Jr., Taylor TJ (2001). Interactions of nitrogen-containing xenobiotics with monoamine oxidase (MAO) isozymes A and B: SAR studies on MAO substrates and inhibitors. **Chem Res Toxicol 14**:1139-1162.

Kaneko M, Honda K, Kanno T, Horikoshi R, Manome T, Watanabe A, Kumashiro H (1992). Plasma free 3-methoxy-4-hydroxyphenylglycol in acute schizophrenics before and after treatment. **Neuropsychobiology 25**:126-129.

Kantrowitz JT, Javitt DC (2010). Thinking glutamatergically: changing concepts of schizophrenia based upon changing neurochemical models. **Clin Schizophr Relat Psychoses 4** :189-200.

Kapur S, Remington G (2001). Dopamine D(2) receptors and their role in atypical antipsychotic action: still necessary and may even be sufficient. **Biol Psychiatry 50**:873-883.

Kegeles L.S., Abi-Dargham A., Frankle W.G., Gil R., Cooper T.B., Slifstein M., et al. (2010), Increased synaptic dopamine function in associative regions of the striatum in schizophrenia. **Arch Gen Psychiatry**, 67 pp. 231–239

Kegeles LS, Mao X, Stanford AD, Girgis R, Ojeil N, Xu X, Gil R, Slifstein M, bi-Dargham A, Lisanby SH, Shungu DC (2012). Elevated prefrontal cortex gamma-aminobutyric acid and glutamate-glutamine levels in schizophrenia measured in vivo with proton magnetic resonance spectroscopy. **Arch Gen Psychiatry 69**:449-459.

Keilhoff G, Becker A, Grecksch G, Wolf G, Bernstein HG (2004). Repeated application of ketamine to rats induces changes in the hippocampal expression of parvalbumin, neuronal nitric oxide synthase and cFOS similar to those found in human schizophrenia. **Neuroscience 126**:591-598.

KELLER DL, UMBREIT WW (1956). Permanent alteration of behavior in mice by chemical and psychological means. **Science 124**:723-724.

Keshavan MS, Diwadkar VA, Montrose DM, Rajarethinam R, Sweeney JA (2005). Premorbid indicators and risk for schizophrenia: a selective review and update. **Schizophr Res 79**:45-57.

Kinon B.J., Zhang L., Millen B.A., Osuntokun O.O., Williams J.E., Kollack-Walker S., Jackson K., Kryzhanovskaya L., Jarkova N.(2011), HBBI Study Group A multicenter, inpatient, phase 2, double-blind, placebo-controlled dose-ranging study of LY2140023 monohydrate in patients with DSM-IV schizophrenia. J. Clin. Psychopharmacol.;31(3):349–355

Kiss T, Hoffmann WE, Hajos M (2011). Delta oscillation and short-term plasticity in the rat medial prefrontal cortex: modelling NMDA hypofunction of schizophrenia. **Int J Neuropsychopharmacol 14**:29-42.

Kiss T, Feng J, Hoffmann WE, Shaffer CL, Hajos M (2013). Rhythmic theta and delta activity of cortical and hippocampal neuronal networks in genetically or pharmacologically induced N-methyl-D-aspartate receptor hypofunction under urethane anesthesia. **Neuroscience 237**:255-267.

Klimesch W (1999). EEG alpha and theta oscillations reflect cognitive and memory performance: a review and analysis. **Brain Res Brain Res Rev 29**:169-195.

Klimesch W, Freunberger R, Sauseng P, Gruber W (2008). A short review of slow phase synchronization and memory: evidence for control processes in different memory systems? **Brain Res 1235**:31-44.

Knott V. J., LaBelle A., Jones B., and Mahoney C. EEG coherence following acute and chronic clozapine in treatment-resistant schizophrenics**. Exp.Clin.Psychopharmacol**. 10 (4):435-444, 2002.

Knyazev GG. (2007). Motivation, emotion, and their inhibitory control mirrored in brain oscillations. Neurosci Biobehav Rev.31(3):377-95

Ko GN, Jimerson DC, Wyatt RJ, Bigelow LB (1988). Plasma 3-methoxy-4-hydroxyphenylglycol changes associated with clinical state and schizophrenic subtype. **Arch Gen Psychiatry 45**:842-846.

Kochs E, Werner C, Hoffman WE, Mollenberg O, Schulte am EJ (1991). Concurrent increases in brain electrical activity and intracranial blood flow velocity during low-dose ketamine anaesthesia. **Can J Anaesth 38**:826-830.

Kocsis B (2012). State-dependent increase of cortical gamma activity during REM sleep after selective blockade of NR2B subunit containing NMDA receptors. **Sleep 35**:1011-1016.

Kocsis B (2012). Differential role of NR2A and NR2B subunits in N-methyl-D-aspartate receptor antagonist-induced aberrant cortical gamma oscillations. **Biol Psychiatry 71**:987-995.

Koenig T, Lehmann D, Saito N, Kuginuki T, Kinoshita T, Koukkou M (2001). Decreased functional connectivity of EEG theta-frequency activity in first-episode, neuroleptic-naive patients with schizophrenia: preliminary results. **Schizophr Res 50**:55-60.

Kokkinidis L, Anisman H (1980). Amphetamine models of paranoid schizophrenia: an overview and elaboration of animal experimentation. **Psychol Bull 88**:551-579.

Konradi C, Yang CK, Zimmerman EI, Lohmann KM, Gresch P, Pantazopoulos H, Berretta S, Heckers S (2011). Hippocampal interneurons are abnormal in schizophrenia. **Schizophr Res 131**:165-173.

Korotkova T, Fuchs EC, Ponomarenko A, von EJ, Monyer H (2010). NMDA receptor ablation on parvalbumin-positive interneurons impairs hippocampal synchrony, spatial representations, and working memory. **Neuron 68**:557-569.

Krapivin SV, Voronina TA: (1995).Comparative quantitative pharmacological-EEG analysis of the effects of psychostimulants]. Vestn Ross AkadpharmacologiMed Nauk;7-16.

Krause M, Jia Y (2005). Serotonergic modulation of carbachol-induced rhythmic activity in hippocampal slices. **Neuropharmacology 48**:381-390.

Krystal JH, Karper LP, Seibyl JP, Freeman GK, Delaney R, Bremner JD, Heninger GR, Bowers MB, Jr., Charney DS (1994). Subanesthetic effects of the noncompetitive NMDA antagonist, ketamine, in humans. Psychotomimetic, perceptual, cognitive, and neuroendocrine responses. **Arch Gen Psychiatry 51**:199-214.

Krystal JH, D'Souza DC, Karper LP, Bennett A, bi-Dargham A, bi-Saab D, Cassello K, Bowers MB, Jr., Vegso S, Heninger GR, Charney DS (1999). Interactive effects of subanesthetic ketamine and haloperidol in healthy humans. **Psychopharmacology (Berl) 145**:193-204.

Krystal JH, Perry EB, Jr., Gueorguieva R, Belger A, Madonick SH, bi-Dargham A, Cooper TB, Macdougall L, bi-Saab W, D'Souza DC (2005). Comparative and interactive human psychopharmacologic effects of ketamine and amphetamine: implications for glutamatergic and dopaminergic model psychoses and cognitive function. **Arch Gen Psychiatry 62**:985-994.

Kubesova,A, Palenicek,T, Votava,M, Fujakova,M, Tyls,F, Sustkova,M, Krsiak,M. The influence of 5-HT 1A/2A antagonists on changes in ultrasonic vocalization in rats induced by administration of MDMA and 2C-B. **Behav Pharmacol** 22, e71. 2011. ABSTRAKT

Lafarga M, Lerga A, Andres MA, Polanco JI, Calle E, Berciano MT.(1997) Apoptosis induced by methylazoxymethanol in developing rat cerebellum: organization of the cell nucleus and its relationship to DNA and rRNA degradation. Cell Tissue Res. 1997 Jul;289(1):25-38.

Lahti AC, Weiler MA, Tamara Michaelidis BA, Parwani A, Tamminga CA (2001). Effects of ketamine in normal and schizophrenic volunteers. **Neuropsychopharmacology 25**:455-467.

Lahti AC, Holcomb HH, Weiler MA, Medoff DR, Tamminga CA (2003). Functional effects of antipsychotic drugs: comparing clozapine with haloperidol. **Biol Psychiatry 53**:601-608.

Laruelle M, bi-Dargham A, van Dyck CH, Gil R, D'Souza CD, Erdos J, McCance E, Rosenblatt W, Fingado C, Zoghbi SS, Baldwin RM, Seibyl JP, Krystal JH, Charney DS, Innis RB (1996). Single photon emission computerized tomography imaging of amphetamine-induced dopamine release in drug-free schizophrenic subjects. **Proc Natl Acad Sci U S A 93**:9235-9240.

Laruelle M., Abi-Dargham A., Gil R., Kegeles L., Innis R. (1999), Increased dopamine transmission in schizophrenia: Relationship to illness phases Biol Psychiatry, 46 pp. 56–72

Lazarewicz MT, Ehrlichman RS, Maxwell CR, Gandal MJ, Finkel LH, Siegel SJ (2010). Ketamine modulates theta and gamma oscillations. **J Cogn Neurosci 22**:1452-1464.

Le PG, Kew J, Alberati D, Borroni E, Heitz MP, Moreau JL (2003). Prepulse inhibition deficits of the startle reflex in neonatal ventral hippocampal-lesioned rats: reversal by glycine and a glycine transporter inhibitor. **Biol Psychiatry 54**:1162-1170.

Lee H, Dvorak D, Kao HY, Duffy AM, Scharfman HE, Fenton AA (2012). Early cognitive experience prevents adult deficits in a neurodevelopmental schizophrenia model. **Neuron 75**:714-724.

Lee KH, Williams LM, Haig A, Gordon E (2003). "Gamma (40 Hz) phase synchronicity" and symptom dimensions in schizophrenia. **Cogn Neuropsychiatry 8**:57-71.

Lee SH, Wynn JK, Green MF, Kim H, Lee KJ, Nam M, Park JK, Chung YC (2006): Quantitative EEG and low resolution electromagnetic tomography (LORETA) imaging of patients with persistent auditory hallucinations. Schizophr Res 2006;83:111-119.

Lehmann D, Faber PL, Pascual-Marqui RD, Milz P, Herrmann WM, Koukkou M, Saito N, Winterer G, Kochi K (2014). Functionally aberrant electrophysiological cortical connectivities in first episode medication-naive schizophrenics from three psychiatry centers. **Front Hum Neurosci 8**:635.

Leung LS, Shen B (2007). GABAB receptor blockade enhances theta and gamma rhythms in the hippocampus of behaving rats. **Hippocampus 17**:281-291.

Liao Y, Tang J, Corlett PR, Wang X, Yang M, Chen H, Liu T, Chen X, Hao W, Fletcher PC (2011) Reduced dorsal prefrontal gray matter after chronic ketamine use. **Biol Psychiatry**. Jan 1;69(1):42-8.

Liao Y, Tang J, Ma M, Wu Z, Yang M, Wang X, et al. (2010)Frontal white matter abnormalities following chronic ketamine use: a diffusion tensor imaging study. Brain. 2010;133:2115.

Lieberman JA, Kane JM, Alvir J (1987). Provocative tests with psychostimulant drugs in schizophrenia. **Psychopharmacology (Berl) 91**:415-433.

Lipska BK, Weinberger DR (1993). Delayed effects of neonatal hippocampal damage on haloperidol-induced catalepsy and apomorphine-induced stereotypic behaviors in the rat. **Brain Res Dev Brain Res 75**:213-222.

Lipska BK, Jaskiw GE, Weinberger DR (1993). Postpubertal emergence of hyperresponsiveness to stress and to amphetamine after neonatal excitotoxic hippocampal damage: a potential animal model of schizophrenia. **Neuropsychopharmacology 9**:67-75.

Lipska BK, Weinberger DR (2000). To model a psychiatric disorder in animals: schizophrenia as a reality test. **Neuropsychopharmacology 23**:223-239.

Lipska BK, Halim ND, Segal PN, Weinberger DR (2002). Effects of reversible inactivation of the neonatal ventral hippocampus on behavior in the adult rat. **J Neurosci 22**:2835-2842.

Lisman J, Buzsaki G (2008). A neural coding scheme formed by the combined function of gamma and theta oscillations. **Schizophr Bull 34**:974-980.

Lisman JE, Jensen O (2013). The theta-gamma neural code. **Neuron 77**:1002-1016.

Llinas RR, Grace AA, Yarom Y (1991). In vitro neurons in mammalian cortical layer 4 exhibit intrinsic oscillatory activity in the 10- to 50-Hz frequency range. **Proc Natl Acad Sci U S A 88**:897-901.

Lodge DJ, Behrens MM, Grace AA (2009). A loss of parvalbumin-containing interneurons is associated with diminished oscillatory activity in an animal model of schizophrenia. **J Neurosci 29**:2344-2354.

Lodge DJ, Grace AA (2009). Gestational methylazoxymethanol acetate administration: a developmental disruption model of schizophrenia. **Behav Brain Res 204**:306-312.

LUBY ED, COHEN BD, ROSENBAUM G, GOTTLIEB JS, KELLEY R (1959). Study of a new schizophrenomimetic drug; sernyl. **AMA Arch Neurol Psychiatry 81**:363-369.

Luchicchi A, Lecca S, Melis M, De Felice M, Cadeddu F, Frau R, Muntoni AL, Fadda P, Devoto P, Pistis M. Maternal Immune Activation Disrupts Dopamine System in the Offspring. **Int J Neuropsychopharmacol**. 2016 Jan 27.

Luo H, Guo B, Goold J, Huang Y, Meng M (2015). Human brain mapping of theta-band behavioral oscillations in masked priming. **J Vis 15**:1243.

Lynall ME, Bassett DS, Kerwin R, McKenna PJ, Kitzbichler M, Muller U, Bullmore E.(2010). Functional connectivity and brain networks in schizophrenia. J Neurosci. 2010 Jul 14;30(28):9477-87

Ma J, Leung LS (2007). The supramammillo-septal-hippocampal pathway mediates sensorimotor gating impairment and hyperlocomotion induced by MK-801 and ketamine in rats. **Psychopharmacology (Berl) 191**:961-974.

Maksimow A, Sarkela M, Langsjo JW, Salmi E, Kaisti KK, Yli-Hankala A, Hinkka-Yli-Salomaki S, Scheinin H, Jaaskelainen SK (2006). Increase in high frequency EEG activity explains the poor performance of EEG spectral entropy monitor during S-ketamine anesthesia. **Clin Neurophysiol 117**:1660-1668.

Maloney KJ, Cape EG, Gotman J, Jones BE (1997). High-frequency gamma electroencephalogram activity in association with sleep-wake states and spontaneous behaviors in the rat. **Neuroscience 76**:541-555.

Mann K., Maier W., Franke P., Roschke J. and Gansicke M.. Intra- and interhemispheric electroencephalogram coherence in siblings discordant for schizophrenia and healthy volunteers. **Biol.Psychiatry** 42 (8):655-663, 1997.

Marek GJ (2010). Metabotropic glutamate2/3 (mGlu2/3) receptors, schizophrenia and cognition. **Eur J Pharmacol 639**:81-90.

Markianos M, Botsis A, Arvanitis Y (1992). Biogenic amine metabolites in plasma of drug-naive schizophrenic patients: associations with symptomatology. **Biol Psychiatry 32**:288-292.

Marona-Lewicka D, Thisted RA, Nichols DE (2005). Distinct temporal phases in the behavioral pharmacology of LSD: dopamine D2 receptor-mediated effects in the rat and implications for psychosis. **Psychopharmacology (Berl) 180**:427-435.

Marsman A, van den Heuvel MP, Klomp DW, Kahn RS, Luijten PR, Hulshoff Pol HE (2013). Glutamate in schizophrenia: a focused review and meta-analysis of (1)H-MRS studies. **Schizophr Bull 39**:120-129.

Mattia A, Leccese AP, Marquis KL, el-Fakahany EE, Moreton JE (1986). Electroencephalographic (EEG), psychopharmacological, and receptor-binding profiles of 'phencyclinoids'. **NIDA Res Monogr 64**:94-111.

Mattsson A1, Lindqvist E, Ogren SO, Olson L.(2005). Increased phencyclidine-induced hyperactivity following cortical cholinergic denervation. Neuroreport. Nov 7;16(16):1815-9.

McNally JM, McCarley RW, McKenna JT, Yanagawa Y, Brown RE (2011). Complex receptor mediation of acute ketamine application on in vitro gamma oscillations in mouse prefrontal cortex: modeling gamma band oscillation abnormalities in schizophrenia. **Neuroscience 199**:51-63.

Medkour T., Walden A. T., Burgess A. P., Strelets V. B.. Brain connectivity in positive and negative syndrome schizophrenia. **Neuroscience** 169 (4):1779-1788, 2010.

Melicher T, Horacek J, Hlinka J, Spaniel F, Tintera J, Ibrahim I, Mikolas P, Novak T, Mohr P, Hoschl C. White matter changes in first episode psychosis and their relation to the size of sample studied: a DTI study. **Schizophr Res.** 2015 Mar;162(1-3):22-8.

Meltzer HY, Sumiyoshi T (2003). Atypical antipsychotic drugs improve cognition in schizophrenia. **Biol Psychiatry 53**:265-267.

Meltzer HY (2012). Serotonergic mechanisms as targets for existing and novel antipsychotics. **Handb Exp Pharmacol**87-124.

Merrin EL, Fein G, Floyd TC, Yingling CD (1986). EEG asymmetry in schizophrenic patients before and during neuroleptic treatment. **Biol Psychiatry 21**:455-464.

Merrin EL, Floyd TC, Fein G (1988). Task-related EEG alpha asymmetry in schizophrenic patients prior to and after neuroleptic treatment. **Schizophr Res 1**:283-293.

Merrin EL, Floyd TC (1992). Negative symptoms and EEG alpha activity in schizophrenic patients. **Schizophr Res 8**:11-20.

Merrin E. L., Floyd T. C. and Fein G. EEG coherence in unmedicated schizophrenic patients. **Biol.Psychiatry** 25 (1):60-66, 1989.

Mesholam-Gately RI, Giuliano AJ, Goff KP, Faraone SV, Seidman LJ (2009). Neurocognition in first-episode schizophrenia: a meta-analytic review. **Neuropsychology 23**:315-336.

Meyer-Lindenberg AS, Olsen RK, Kohn PD, Brown T, Egan MF, Weinberger DR, Berman KF (2005). Regionally specific disturbance of dorsolateral prefrontal-hippocampal functional connectivity in schizophrenia. **Arch Gen Psychiatry 62**:379-386.

Micheloyannis S, Pachou E, Stam CJ, Breakspear M, Bitsios P, Vourkas M, Erimaki S, Zervakis M.(2006) Small-world networks and disturbed functional connectivity in schizophrenia. Schizophr Res. 2006 Oct;87(1-3):60-6.

Millan C, Lujan R, Shigemoto R, Sanchez-Prieto J (2002). Subtype-specific expression of group III metabotropic glutamate receptors and Ca2+ channels in single nerve terminals. **J Biol Chem 277**:47796-47803.

Minzenberg MJ, Firl AJ, Yoon JH, Gomes GC, Reinking C, Carter CS (2010). Gamma oscillatory power is impaired during cognitive control independent of medication status in first-episode schizophrenia. **Neuropsychopharmacology 35**:2590-2599.

Mitelman SA, Shihabuddin L, Brickman AM, Hazlett EA, Buchsbaum MS (2003). MRI assessment of gray and white matter distribution in Brodmann's areas of the cortex in patients with schizophrenia with good and poor outcomes. **Am J Psychiatry 160**:2154-2168.

Moore H, Jentsch JD, Ghajarnia M, Geyer MA, Grace AA (2006). A neurobehavioral systems analysis of adult rats exposed to methylazoxymethanol acetate on E17: implications for the neuropathology of schizophrenia. **Biol Psychiatry 60**:253-264.

Moran LV, Hong LE (2011). High vs low frequency neural oscillations in schizophrenia. **Schizophr Bull 37**:659-663.

Mrzljak L, Bergson C, Pappy M, Huff R, Levenson R, Goldman-Rakic PS (1996). Localization of dopamine D4 receptors in GABAergic neurons of the primate brain. **Nature 381**:245-248.

Muck-Seler D, Pivac N, Mustapic M, Crncevic Z, Jakovljevic M, Sagud M (2004). Platelet serotonin and plasma prolactin and cortisol in healthy, depressed and schizophrenic women. **Psychiatry Res 127**:217-226.

Nagase Y., Okubo Y., Matsuura M., Kojima T. and Toru M. EEG coherence in unmedicated schizophrenic patients: topographical study of predominantly never medicated cases. **Biol.Psychiatry** 32 (11):1028-1034, 1992.

Nagy D, Stoiljkovic M, Menniti FS, Hajós M. Differential Effects of an NR2B NAM and Ketamine on Synaptic Potentiation and Gamma Synchrony: Relevance to Rapid-Onset Antidepressant Efficacy. **Neuropsychopharmacology**. 2015 Sep 25.

Nakatani-Pawlak A, Yamaguchi K, Tatsumi Y, Mizoguchi H, Yoneda Y (2009). Neonatal phencyclidine treatment in mice induces behavioral, histological and neurochemical abnormalities in adulthood. **Biol Pharm Bull 32**:1576-1583.

Natsubori T, Inoue H, Abe O, Takano Y, Iwashiro N, Aoki Y, Koike S, Yahata N, Katsura M, Gonoi W, Sasaki H, Takao H, Kasai K, Yamasue H (2014). Reduced frontal glutamate + glutamine and N-acetylaspartate levels in patients with chronic schizophrenia but not in those at clinical high risk for psychosis or with first-episode schizophrenia. **Schizophr Bull 40**:1128-1139.

Niedermeyer, E and Lopes da Silva F. H. Electroencephalography: Basic Principles, Clinical Applications, and Related Fields. Lippincott Williams & Wilkins, 2005

Niwa M, Kamiya A, Murai R, Kubo K, Gruber AJ, Tomita K, Lu L, Tomisato S, Jaaro-Peled H, Seshadri S, Hiyama H, Huang B, Kohda K, Noda Y, O'Donnell P, Nakajima K, Sawa A, Nabeshima T (2010). Knockdown of DISC1 by in utero gene transfer disturbs postnatal dopaminergic maturation in the frontal cortex and leads to adult behavioral deficits. **Neuron 65**:480-489.

O'Tuathaigh CM, Waddington JL (2015). Closing the translational gap between mutant mouse models and the clinical reality of psychotic illness. **Neurosci Biobehav Rev 58**:19-35.

Oades RD, Klimke A, Henning U, Rao ML (2002). Relations of clinical features, subgroups and medication to serum monoamines in schizophrenia. **Hum Psychopharmacol 17**:15-27.

Okamoto M, Katayama T, Suzuki Y, Hoshino KY, Yamada H, Matsuoka N, Jodo E (2012). Neonatal administration of phencyclidine decreases the number of putative inhibitory interneurons and increases neural excitability to auditory paired clicks in the hippocampal CA3 region of freely moving adult mice. **Neuroscience 224**:268-281.

Olney JW, Farber NB (1995). NMDA antagonists as neurotherapeutic drugs, psychotogens, neurotoxins, and research tools for studying schizophrenia. **Neuropsychopharmacology 13**:335-345.

Owen MJ, Sawa A, Mortensen PB (2016). Schizophrenia. **Lancet**.

Oye I, Paulsen O, Maurset A.(1992). Effects of ketamine on sensory perception: evidence for a role of N-methyl-D-aspartate receptors. J Pharmacol Exp Ther. Mar;260(3):1209-13.

Pachou E, Vourkas M, Simos P, Smit D, Stam CJ, Tsirka V, Micheloyannis S (2008). Working memory in schizophrenia: an EEG study using power spectrum and coherence analysis to estimate cortical activation and network behavior. **Brain Topogr 21**:128-137.

Palenicek T, Votava M, Bubenikova V, Horacek J (2005). Increased sensitivity to the acute effects of MDMA ("ecstasy") in female rats. **Physiol Behav 86**:546-553.

Palenicek T, Balikova M, Bubenikova-Valesova V, Horacek J (2008). Mescaline effects on rat behavior and its time profile in serum and brain tissue after a single subcutaneous dose. **Psychopharmacology (Berl) 196**:51-62.

Palenicek T, Hlinak Z, Bubenikova-Valesova V, Novak T, Horacek J (2010). Sex differences in the effects of N,N-diethyllysergamide (LSD) on behavioural activity and prepulse inhibition. **Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry 34**:588-596.

Palenicek T, Fujakova M, Brunovsky M, Balikova M, Horacek J, Gorman I, Tyls F, Tislerova B, Sos P, Bubenikova-Valesova V, Hoschl C, Krajca V (2011). Electroencephalographic spectral and coherence analysis of ketamine in rats: correlation with behavioral effects and pharmacokinetics. **Neuropsychobiology 63**:202-218.

Palenicek T, Fujakova M, Brunovsky M, Horacek J, Gorman I, Balikova M, Rambousek L, Syslova K, Kacer P, Zach P, Bubenikova-Valesova V, Tyls F, Kubesova A, Puskarcikova J, Hoschl C (2013). Behavioral, neurochemical and pharmaco-EEG profiles of the psychedelic drug 4-bromo-2,5-dimethoxyphenethylamine (2C-B) in rats. **Psychopharmacology (Berl) 225**:75-93.

Palenicek T, Bubenikova-Valesova V, Horacek J. Modeling of psychotic-like behavior:comparison of MK-801 with psilocin, LSD, mescaline and 2C-B models. Behavioral study on prepulse inhibition of acoustic startle and on locomotion. Schizophrenia Research 2006;81 (Suppl.): 292.

Palva S, Palva JM (2007). New vistas for alpha-frequency band oscillations. **Trends Neurosci 30**:150-158.

Papaleo F, Yang F, Garcia S, Chen J, Lu B, Crawley JN, Weinberger DR (2012). Dysbindin-1 modulates prefrontal cortical activity and schizophrenia-like behaviors via dopamine/D2 pathways. **Mol Psychiatry 17**:85-98.

Patil ST, Zhang L, Martenyi F, Lowe SL, Jackson KA, Andreev BV, Avedisova AS, Bardenstein LM, Gurovich IY, Morozova MA, Mosolov SN, Neznanov NG, Reznik AM, Smulevich AB, Tochilov VA, Johnson BG, Monn JA, Schoepp DD (2007). Activation of mGlu2/3 receptors as a new approach to treat schizophrenia: a randomized Phase 2 clinical trial. **Nat Med 13**:1102-1107.

Paulus MP, Geyer MA (1992). The effects of MDMA and other methylenedioxy-substituted phenylalkylamines on the structure of rat locomotor activity. **Neuropsychopharmacology 7**:15-31.

Paxinos,G, Watson,C. The Rat Brain In Strereotactic Coordinates. Elsevier Inc., 2007.

Pedersen CA, Gibson CM, Rau SW, Salimi K, Smedley KL, Casey RL, Leserman J, Jarskog LF, Penn DL (2011). Intranasal oxytocin reduces psychotic symptoms and improves Theory of Mind and social perception in schizophrenia. **Schizophr Res 132**:50-53.

Pesaran B, Nelson MJ, Andersen RA (2008). Free choice activates a decision circuit between frontal and parietal cortex. **Nature 453**:406-409.

Pettersson-Yeo W, Benetti S, Marquand AF, Dell'acqua F, Williams SC, Allen P, Prata D, McGuire P, Mechelli A (2013). Using genetic, cognitive and multi-modal neuroimaging data to identify ultra-high-risk and first-episode psychosis at the individual level. **Psychol Med 43**:2547-2562.

Phillips KG, Cotel MC, McCarthy AP, Edgar DM, Tricklebank M, O'Neill MJ, Jones MW, Wafford KA (2012). Differential effects of NMDA antagonists on high frequency and gamma EEG oscillations in a neurodevelopmental model of schizophrenia. **Neuropharmacology 62**:1359-1370.

Pinault D (2008). N-methyl d-aspartate receptor antagonists ketamine and MK-801 induce wake-related aberrant gamma oscillations in the rat neocortex. **Biol Psychiatry 63**:730-735.

Popoli P, Pezzola A, Sagratella S (1994). Diphenylhydantoin potentiates the EEG and behavioural effects induced by N-methyl-D-aspartate antagonists in rats. **Psychopharmacology (Berl) 113**:471-475.

Pulvermuller F, Lutzenberger W, Preissl H (1999). Nouns and verbs in the intact brain: evidence from event-related potentials and high-frequency cortical responses. **Cereb Cortex 9**:497-506.

Ramyead A, Kometer M, Studerus E, Koranyi S, Ittig S, Gschwandtner U, Fuhr P, Riecher-Rossler A (2015). Aberrant Current Source-Density and Lagged Phase Synchronization of Neural Oscillations as Markers for Emerging Psychosis. **Schizophr Bull 41**:919-929.

Ranlund S, Nottage J, Shaikh M, Dutt A, Constante M, Walshe M, Hall MH, Friston K, Murray R, Bramon E (2014). Resting EEG in psychosis and at-risk populations--a possible endophenotype? **Schizophr Res 153**:96-102.

Ranlund S, Nottage J, Shaikh M, Dutt A, Constante M, Walshe M, Hall MH, Friston K, Murray R, Bramon E (2014). Resting EEG in psychosis and at-risk populations--a possible endophenotype? **Schizophr Res 153**:96-102.

Reichenberg A, Weiser M, Rapp MA, Rabinowitz J, Caspi A, Schmeidler J, Knobler HY, Lubin G, Nahon D, Harvey PD, Davidson M (2005). Elaboration on premorbid intellectual performance in schizophrenia: premorbid intellectual decline and risk for schizophrenia. **Arch Gen Psychiatry 62**:1297-1304.

Ribary U, Ioannides AA, Singh KD, Hasson R, Bolton JP, Lado F, Mogilner A, Llinas R (1991). Magnetic field tomography of coherent thalamocortical 40-Hz oscillations in humans. **Proc Natl Acad Sci U S A 88**:11037-11041.

Rice D, Barone S Jr (2000). Critical periods of vulnerability for the developing nervous system: evidence from humans and animal models. **Environ Health Perspect 108 Suppl 3**:511-533.

Rohanova M, Palenicek T, Balikova M (2008). Disposition of 4-bromo-2,5-dimethoxyphenethylamine (2C-B) and its metabolite 4-bromo-2-hydroxy-5-methoxyphenethylamine in rats after subcutaneous administration. **Toxicol Lett 178**:29-36.

Roiser JP, Wigton R, Kilner JM, Mendez MA, Hon N, Friston KJ, Joyce EM.(2013) Dysconnectivity in the frontoparietal attention network in schizophrenia. Front Psychiatry. Dec 24;4:176.

Roopun AK, Middleton SJ, Cunningham MO, Lebeau FE, Bibbig A, Whittington MA, Traub RD (2006). A beta2-frequency (20-30 Hz) oscillation in nonsynaptic networks of somatosensory cortex. **Proc Natl Acad Sci U S A 103**:15646-15650.

Roopun AK, Cunningham MO, Racca C, Alter K, Traub RD, Whittington MA (2008). Region-specific changes in gamma and beta2 rhythms in NMDA receptor dysfunction models of schizophrenia. **Schizophr Bull 34**:962-973.

Rowland LM, Bustillo JR, Mullins PG, Jung RE, Lenroot R, Landgraf E, Barrow R, Yeo R, Lauriello J, Brooks WM (2005). Effects of ketamine on anterior cingulate glutamate metabolism in healthy humans: a 4-T proton MRS study. **Am J Psychiatry 162**:394-396.

Rutter L, Carver FW, Holroyd T, Nadar SR, Mitchell-Francis J, Apud J, Weinberger DR, Coppola R (2009). Magnetoencephalographic gamma power reduction in patients with schizophrenia during resting condition. **Hum Brain Mapp 30**:3254-3264.

Sagratella S, Pezzola A, Popoli P, Scotti de Carolis AS (1992). Different capability of N-methyl-D-aspartate antagonists to elicit EEG and behavioural phencyclidine-like effects in rats. **Psychopharmacology (Berl) 109**:277-282.

Salazar RF, Dotson NM, Bressler SL, Gray CM (2012). Content-specific fronto-parietal synchronization during visual working memory. **Science 338**:1097-1100.

Saletu B, Kufferle B, Grunberger J, Anderer P (1986). Quantitative EEG, SPEM, and psychometric studies in schizophrenics before and during differential neuroleptic therapy. **Pharmacopsychiatry 19**:434-437.

Sams-Dodd F (1995). Distinct effects of d-amphetamine and phencyclidine on the social behaviour of rats. **Behav Pharmacol 6**:55-65.

Sams-Dodd F, Lipska BK, Weinberger DR.(1997). Neonatal lesions of the rat ventral hippocampus result in hyperlocomotion and deficits in social behaviour in adulthood. Psychopharmacology (Berl). Aug;132(3):303-10.

Sawaguchi T, Matsumura M, Kubota K. (1988). Dopamine enhances the neuronal activity of spatial short-term memory task in the primate prefrontal cortex. Neurosci Res. 1988 Jun;5(5):465-73.

Scheffzuk C, Kukushka VI, Vyssotski AL, Draguhn A, Tort AB, Brankack J (2013). Global slowing of network oscillations in mouse neocortex by diazepam. **Neuropharmacology 65**:123-133.

Scheidegger M, Walter M, Lehmann M, Metzger C, Grimm S, Boeker H, Boesiger P, Henning A, Seifritz E (2012). Ketamine decreases resting state functional network connectivity in healthy subjects: implications for antidepressant drug action. **PLoS One 7**:e44799.

Schmiedt C, Brand A, Hildebrandt H, Basar-Eroglu C (2005). Event-related theta oscillations during working memory tasks in patients with schizophrenia and healthy controls. **Brain Res Cogn Brain Res 25**:936-947.

Schmidt A, Diwadkar VA, Smieskova R, Harrisberger F, Lang UE, McGuire P, Fusar-Poli P, Borgwardt S.: Approaching a network connectivity-driven classification of the psychosis continuum: a selective review and suggestions for future research.. Front Hum Neurosci. 2015 Jan 13;8:1047.

Schobel SA, Chaudhury NH, Khan UA, Paniagua B, Styner MA, Asllani I, Inbar BP, Corcoran CM, Lieberman JA, Moore H, Small SA (2013). Imaging patients with psychosis and a mouse model establishes a spreading pattern of hippocampal dysfunction and implicates glutamate as a driver. **Neuron 78**:81-93.

Schurmann M, Basar-Eroglu C, Basar E (1997). A possible role of evoked alpha in primary sensory processing: common properties of cat intracranial recordings and human EEG and MEG. **Int J Psychophysiol 26**:149-170.

Seeman P, Kapur S (2000). Schizophrenia: more dopamine, more D2 receptors. **Proc Natl Acad Sci U S A 97**:7673-7675.

Seeman P, Lasaga M. (2005). Dopamine agonist action of phencyclidine. Synapse. Dec 15;58(4):275-7.

Seeman P, Guan H-C, Hirbec H. (2009). Dopamine D2 high receptors stimulated by phencyclidines, lysergic acid diethylamide, salvinorin A, and modafinil. Synapse,

Selvaraj S, Arnone D, Cappai A, Howes O (2014). Alterations in the serotonin system in schizophrenia: a systematic review and meta-analysis of post-mortem and molecular imaging studies. **Neurosci Biobehav Rev 45**:233-245.

Sharp T, Zetterstrom T, Ljungberg T, Ungerstedt U (1987). A direct comparison of amphetamine-induced behaviours and regional brain dopamine release in the rat using intracerebral dialysis. **Brain Res 401**:322-330.

Sheffield JM and Barch DM. Cognition and resting-state functional connectivity in schizophrenia. Neurosci Biobehav Rev. 2016 Feb;61:108-20

Shenton ME, Dickey CC, Frumin M, McCarley RW (2001). A review of MRI findings in schizophrenia. **Schizophr Res 49**:1-52.

Shepherd AM, Matheson SL, Laurens KR, Carr VJ, Green MJ (2012). Systematic meta-analysis of insula volume in schizophrenia. **Biol Psychiatry 72**:775-784.

Shirazi-Southall S, Rodriguez DE, Nomikos GG (2002). Effects of typical and atypical antipsychotics and receptor selective compounds on acetylcholine efflux in the hippocampus of the rat. **Neuropsychopharmacology 26**:583-594.

Shoblock JR, Maisonneuve IM, Glick SD (2003). Differences between d-methamphetamine and d-amphetamine in rats: working memory, tolerance, and extinction. **Psychopharmacology (Berl) 170**:150-156.

Shulgin AT, Carter MF (1975). Centrally active phenethylamines. **Psychopharmacol Commun 1**:93-98.

Siapas AG, Lubenov EV, Wilson MA (2005). Prefrontal phase locking to hippocampal theta oscillations. **Neuron 46**:141-151.

Siekmeier PJ, Stufflebeam SM (2010). Patterns of spontaneous magnetoencephalographic activity in patients with schizophrenia. **J Clin Neurophysiol 27**:179-190.

Sigurdsson T, Stark KL, Karayiorgou M, Gogos JA, Gordon JA (2010). Impaired hippocampal-prefrontal synchrony in a genetic mouse model of schizophrenia. **Nature 464**:763-767.

Singer W, Gray CM (1995). Visual feature integration and the temporal correlation hypothesis. **Annu Rev Neurosci 18**:555-586.

Skudlarski P, Jagannathan K, Anderson K, Stevens MC, Calhoun VD, Skudlarska BA, Pearlson G (2010). Brain connectivity is not only lower but different in schizophrenia: a combined anatomical and functional approach. **Biol Psychiatry 68**:61-69.

Slewa-Younan S, Green AM, Baguley IJ, Felmingham KL, Haig AR, Gordon E (2002). Is 'gamma' (40 Hz) synchronous activity disturbed in patients with traumatic brain injury? **Clin Neurophysiol 113**:1640-1646.

Slifstein M., Giessen E. van de, Van Snellenberg J., Thompson J.L., Narendran R., Gil R., et al. (2015), Deficits in prefrontal cortical and extrastriatal dopamine release in schizophrenia: A positron emission tomographic functional magnetic resonance imaging study. **JAMA** Psychiatry, 72 pp. 316–324

Sohal VS, Zhang F, Yizhar O, Deisseroth K (2009). Parvalbumin neurons and gamma rhythms enhance cortical circuit performance. **Nature 459**:698-702.

Sorman E, Wang D, Hajos M, Kocsis B (2011). Control of hippocampal theta rhythm by serotonin: role of 5-HT2C receptors. **Neuropharmacology 61**:489-494.

Spencer KM, Nestor PG, Niznikiewicz MA, Salisbury DF, Shenton ME, McCarley RW (2003). Abnormal neural synchrony in schizophrenia. **J Neurosci 23**:7407-7411.

Spencer KM, Nestor PG, Perlmutter R, Niznikiewicz MA, Klump MC, Frumin M, Shenton ME, McCarley RW (2004). Neural synchrony indexes disordered perception and cognition in schizophrenia. **Proc Natl Acad Sci U S A 101**:17288-17293.

Spencer KM, Niznikiewicz MA, Shenton ME, McCarley RW (2008). Sensory-evoked gamma oscillations in chronic schizophrenia. **Biol Psychiatry 63**:744-747.

Stauffer V.L., Millen B.A., Andersen S., Kinon B.J., Lagrandeur L., Lindenmayer J.P., Gomez J.C. (2013). Pomaglumetad methionil: no significant difference as an adjunctive treatment for patients with prominent negative symptoms of schizophrenia compared to placebo. Schizophr. Res.150(2-3):434–441. doi: 10.1016/j.schres.2013.08.020

Stephan KE, Magnotta VA, White T, Arndt S, Flaum M, O'Leary DS, Andreasen NC (2001). Effects of olanzapine on cerebellar functional connectivity in schizophrenia measured by fMRI during a simple motor task. **Psychol Med 31**:1065-1078.

Stone JM, Dietrich C, Edden R, Mehta MA, De SS, Reed LJ, Krystal JH, Nutt D, Barker GJ (2012). Ketamine effects on brain GABA and glutamate levels with 1H-MRS: relationship to ketamine-induced psychopathology. **Mol Psychiatry 17**:664-665.

Sumiyoshi T, Matsui M, Nohara S, Yamashita I, Kurachi M, Sumiyoshi C, Jayathilake K, Meltzer HY (2001). Enhancement of cognitive performance in schizophrenia by addition of tandospirone to neuroleptic treatment. **Am J Psychiatry 158**:1722-1725.

Sumiyoshi T, Park S, Jayathilake K, Roy A, Ertugrul A, Meltzer HY (2007). Effect of buspirone, a serotonin1A partial agonist, on cognitive function in schizophrenia: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. **Schizophr Res 95**:158-168.

Sun Y, Farzan F, Barr MS, Kirihara K, Fitzgerald PB, Light GA, Daskalakis ZJ (2011). gamma oscillations in schizophrenia: mechanisms and clinical significance. **Brain Res 1413**:98-114.

Swerdlow NR, Geyer MA (1998). Using an animal model of deficient sensorimotor gating to study the pathophysiology and new treatments of schizophrenia. **Schizophr Bull 24**:285-301.

Swerdlow NR, Stephany N, Wasserman LC, Talledo J, Shoemaker J, Auerbach PP (2003). Amphetamine effects on prepulse inhibition across-species: replication and parametric extension. **Neuropsychopharmacology 28**:640-650.

Tallon-Baudry C, Bertrand O, Delpuech C, Permier J (1997). Oscillatory gamma-band (30-70 Hz) activity induced by a visual search task in humans. **J Neurosci 17**:722-734.

Tallon-Baudry C, Bertrand O, Peronnet F, Pernier J (1998). Induced gamma-band activity during the delay of a visual short-term memory task in humans. **J Neurosci 18**:4244-4254.

Tallon-Baudry C, Bertrand O (1999). Oscillatory gamma activity in humans and its role in object representation. **Trends Cogn Sci 3**:151-162.

Tallon-Baudry C, Bertrand O, Henaff MA, Isnard J, Fischer C (2005). Attention modulates gamma-band oscillations differently in the human lateral occipital cortex and fusiform gyrus. **Cereb Cortex 15**:654-662.

Tallon-Baudry C.(2004)Attention and awareness in synchrony. Trends Cogn Sci. 2004 Dec;8(12):523-5.

Tatard-Leitman VM, Jutzeler CR, Suh J, Saunders JA, Billingslea EN, Morita S, White R, Featherstone RE, Ray R, Ortinski PI, Banerjee A, Gandal MJ, Lin R, Alexandrescu A, Liang Y, Gur RE, Borgmann-Winter KE, Carlson GC, Hahn CG, Siegel SJ (2015). Pyramidal cell selective ablation of N-methyl-D-aspartate receptor 1 causes increase in cellular and network excitability. **Biol Psychiatry 77**:556-568.

Tauscher J, Fischer P, Neumeister A, Rappelsberger P, Kasper S (1998). Low frontal electroencephalographic coherence in neuroleptic-free schizophrenic patients. **Biol Psychiatry 44**:438-447.

Taylor SF, Tso IF (2015). GABA abnormalities in schizophrenia: a methodological review of in vivo studies. **Schizophr Res 167**:84-90.

Tekell JL, Hoffmann R, Hendrickse W, Greene RW, Rush AJ, Armitage R (2005). High frequency EEG activity during sleep: characteristics in schizophrenia and depression. **Clin EEG Neurosci 36**:25-35.

Tseng KY, Lewis BL, Hashimoto T, Sesack SR, Kloc M, Lewis DA, O'Donnell P.(2008) A neonatal ventral hippocampal lesion causes functional deficits in adult prefrontal cortical interneurons. J Neurosci. 2008 Nov 26;28(48):12691-9

Tseng KY, Lewis BL, Lipska BK, O'Donnell P.(2007) Post-pubertal disruption of medial prefrontal cortical dopamine-glutamate interactions in a developmental animal model of schizophrenia. Biol Psychiatry. 2007 Oct 1;62(7):730-8.

Todtenkopf MS, Benes FM (1998). Distribution of glutamate decarboxylase65 immunoreactive puncta on pyramidal and nonpyramidal neurons in hippocampus of schizophrenic brain. **Synapse 29**:323-332.

Tyls,F, Palenicek,T, Fujakova,M, Kubesova,A, Brunovsky ,M, Horacek,J, Krajca,V. The effect of tryptamine hallucinogens on quantitative EEG and behavior in rats. **Behavioral Pharmacology** 2011;22: 39. ABSTRAKT

Uehara T, Itoh H, Matsuoka T, Rujescu D, Genius J, Seo T, Sumiyoshi T (2012). Effect of transient blockade of N-methyl-D-aspartate receptors at neonatal stage on stress-induced lactate metabolism in the medial prefrontal cortex of adult rats: role of 5-HT1A receptor agonism. **Synapse 66**:408-417.

Uhlhaas PJ, Linden DE, Singer W, Haenschel C, Lindner M, Maurer K, Rodriguez E (2006). Dysfunctional long-range coordination of neural activity during Gestalt perception in schizophrenia. **J Neurosci 26**:8168-8175.

Uhlhaas PJ, Haenschel C, Nikolic D, Singer W (2008). The role of oscillations and synchrony in cortical networks and their putative relevance for the pathophysiology of schizophrenia. **Schizophr Bull 34**:927-943.

Uhlhaas PJ, Singer W (2010). Abnormal neural oscillations and synchrony in schizophrenia. **Nat Rev Neurosci 11**:100-113.

Uhlhaas PJ, Pipa G, Neuenschwander S, Wibral M, Singer W (2011). A new look at gamma? High- (>60 Hz) gamma-band activity in cortical networks: function, mechanisms and impairment. **Prog Biophys Mol Biol 105**:14-28.

Uhlhaas PJ, Singer W (2012). Neuronal dynamics and neuropsychiatric disorders: toward a translational paradigm for dysfunctional large-scale networks. **Neuron 75**:963-980.

Uhlhaas PJ, Singer W (2013). High-frequency oscillations and the neurobiology of schizophrenia. **Dialogues Clin Neurosci 15**:301-313.

Uhlhaas PJ, Singer W (2015). Oscillations and neuronal dynamics in schizophrenia: the search for basic symptoms and translational opportunities. **Biol Psychiatry 77**:1001-1009.

Valdes-Cruz A, Negrete-Diaz JV, Magdaleno-Madrigal VM, Martinez-Vargas D, Fernandez-Mas R, mazan-Alvarado S, Torres-Garcia ME, Flores G (2012). Electroencephalographic activity in neonatal ventral hippocampus lesion in adult rats. **Synapse 66**:738-746.

Van der GM, Kern RS, van den Bosch RJ, Liberman RP (2002). A controlled trial of cognitive remediation in schizophrenia. **Schizophr Bull 28**:167-176.

Venables NC, Bernat EM, Sponheim SR (2009). Genetic and disorder-specific aspects of resting state EEG abnormalities in schizophrenia. **Schizophr Bull 35**:826-839.

Vertes RP, Hoover WB, Viana Di PG (2004). Theta rhythm of the hippocampus: subcortical control and functional significance. **Behav Cogn Neurosci Rev 3**:173-200.

Vigano D, Guidali C, Petrosino S, Realini N, Rubino T, Di M, V, Parolaro D (2009). Involvement of the endocannabinoid system in phencyclidine-induced cognitive deficits modelling schizophrenia. **Int J Neuropsychopharmacol 12**:599-614.

Villalobos CA, Bull P, Saez P, Cassels BK, Huidobro-Toro JP (2004). 4-Bromo-2,5-dimethoxyphenethylamine (2C-B) and structurally related phenylethylamines are potent 5-HT2A receptor antagonists in Xenopus laevis oocytes. **Br J Pharmacol 141**:1167-1174.

Vita A, De PL, Silenzi C, Dieci M (2006). Brain morphology in first-episode schizophrenia: a meta-analysis of quantitative magnetic resonance imaging studies. **Schizophr Res 82**:75-88.

Vohs JL, Chambers RA, Krishnan GP, O'Donnell BF, Hetrick WP, Kaiser ST, Berg S, Morzorati SL (2009). Auditory sensory gating in the neonatal ventral hippocampal lesion model of schizophrenia. **Neuropsychobiology 60**:12-22.

Vollenweider FX, Leenders KL, Scharfetter C, Antonini A, Maguire P, Missimer J, Angst J (1997). Metabolic hyperfrontality and psychopathology in the ketamine model of psychosis using positron emission tomography (PET) and [18F]fluorodeoxyglucose (FDG). **Eur Neuropsychopharmacol 7**:9-24.

Vollenweider FX (1998). Advances and pathophysiological models of hallucinogenic drug actions in humans: a preamble to schizophrenia research. **Pharmacopsychiatry 31 Suppl 2**:92-103.

Vollenweider FX, Vontobel P, Hell D, Leenders KL (1999). 5-HT modulation of dopamine release in basal ganglia in psilocybin-induced psychosis in man--a PET study with [11C]raclopride. **Neuropsychopharmacology 20**:424-433.

Vollenweider FX, Geyer MA (2001). A systems model of altered consciousness: integrating natural and drug-induced psychoses. **Brain Res Bull 56**:495-507.

Vollenweider FX, Kometer M (2010). The neurobiology of psychedelic drugs: implications for the treatment of mood disorders. **Nat Rev Neurosci 11**:642-651.

von Stein, Sarnthein J (2000). Different frequencies for different scales of cortical integration: from local gamma to long range alpha/theta synchronization. **Int J Psychophysiol 38**:301-313.

Vyazovskiy VV, Kopp C, Wigger E, Jones ME, Simpson ER, Tobler I (2006). Sleep and rest regulation in young and old oestrogen-deficient female mice. **J Neuroendocrinol 18**:567-576.

Wada Y., Nanbu Y., Jiang Z. Y., Koshino Y. and Hashimoto T.. Interhemispheric EEG coherence in never-medicated patients with paranoid schizophrenia: analysis at rest and during photic stimulation. **Clin.Electroencephalogr.** 29 (4):170-176, 1998.

Wang C, McInnis J, Ross-Sanchez M, Shinnick-Gallagher P, Wiley JL, Johnson KM (2001). Long-term behavioral and neurodegenerative effects of perinatal phencyclidine administration: implications for schizophrenia. **Neuroscience 107**:535-550.

Wang C, McInnis J, West JB, Bao J, Anastasio N, Guidry JA, Ye Y, Salvemini D, Johnson KM (2003). Blockade of phencyclidine-induced cortical apoptosis and deficits in prepulse inhibition by M40403, a superoxide dismutase mimetic. **J Pharmacol Exp Ther 304** :266-271.

Wang XJ, Buzsaki G (1996). Gamma oscillation by synaptic inhibition in a hippocampal interneuronal network model. **J Neurosci 16**:6402-6413.

Weinberger DR, Berman KF, Zec RF (1986). Physiologic dysfunction of dorsolateral prefrontal cortex in schizophrenia. I. Regional cerebral blood flow evidence. **Arch Gen Psychiatry 43**:114-124.

Weinstein JJ, Chohan MO, Slifstein M, Kegeles LS, Moore H, Abi-Dargham A. (2016). Pathway-Specific Dopamine Abnormalities in Schizophrenia, **Biol Psychiatry**. Mar 31.

White T, Su S, Schmidt M, Kao CY, Sapiro G (2010). The development of gyrification in childhood and adolescence. **Brain Cogn 72**:36-45.

White T, Hilgetag CC (2011). Gyrification and neural connectivity in schizophrenia. **Dev Psychopathol 23**:339-352.

Whittington MA, Traub RD, Jefferys JG (1995). Synchronized oscillations in interneuron networks driven by metabotropic glutamate receptor activation. **Nature 373**:612-615.

Williams LM (2008). Voxel-based morphometry in schizophrenia: implications for neurodevelopmental connectivity models, cognition and affect. **Expert Rev Neurother 8**:1049-1065.

Wilson MA, Kinsman SL, Johnston MV.(1998) Expression of NMDA receptor subunit mRNA after MK-801 treatment in neonatal rats. Brain Res Dev Brain Res;109:211-20.

Winterer G., Egan M. F., Radler T., Hyde T., Coppola R. and Weinberger D. R. An association between reduced interhemispheric EEG coherence in the temporal lobe and genetic risk for schizophrenia. **Schizophr.Res.** 49 (1-2):129-143, 2001.

Woo TU, Walsh JP, Benes FM (2004). Density of glutamic acid decarboxylase 67 messenger RNA-containing neurons that express the N-methyl-D-aspartate receptor subunit NR2A in the anterior cingulate cortex in schizophrenia and bipolar disorder. **Arch Gen Psychiatry 61**:649-657.

Woodward ND, Rogers B, Heckers S (2011). Functional resting-state networks are differentially affected in schizophrenia. **Schizophr Res 130**:86-93.

Yamamoto J.(1997). Cortical and hippocampal EEG power spectra in animal models of schizophrenia produced with methamphetamine, cocaine, and phencyclidine. Psychopharmacology (Berl). 1997 Jun;131(4):379-87.

Yao L, Lui S, Deng W, Wu M, Chen L, Xiao Y, Lama S, Zhang W, Huang X, Li T, Gong Q (2014). Association of white matter deficits with clinical symptoms in antipsychotic-naive first-episode schizophrenia: an optimized VBM study using 3T. **MAGMA 27**:283-290.

Yeragani VK, Cashmere D, Miewald J, Tancer M, Keshavan MS (2006). Decreased coherence in higher frequency ranges (beta and gamma) between central and frontal EEG in patients with schizophrenia: A preliminary report. **Psychiatry Res 141**:53-60.

Yoon JH, Maddock RJ, Rokem A, Silver MA, Minzenberg MJ, Ragland JD, Carter CS (2010). GABA concentration is reduced in visual cortex in schizophrenia and correlates with orientation-specific surround suppression. **J Neurosci 30**:3777-3781.

Yordanova J, Banaschewski T, Kolev V, Woerner W, Rothenberger A (2001). Abnormal early stages of task stimulus processing in children with attention-deficit hyperactivity disorder--evidence from event-related gamma oscillations. **Clin Neurophysiol 112**:1096-1108.

Young GA (1988). Relationship between amphetamine-induced effects on EEG power spectra and motor activity in rats. **Pharmacol Biochem Behav 30**:489-492.

Yuen EY, Yan Z (2009). Dopamine D4 receptors regulate AMPA receptor trafficking and glutamatergic transmission in GABAergic interneurons of prefrontal cortex. **J Neurosci 29**:550-562.

Zalesky A, Cocchi L, Fornito A, Murray MM, Bullmore E (2012). Connectivity differences in brain networks. **Neuroimage 60**:1055-1062.

Zazpe A, Artaiz I, Innerarity A, Del OE, Castro E, Labeaga L, Pazos A, Orjales A (2006). In vitro and in vivo characterization of F-97013-GD, a partial 5-HT1A agonist with antipsychotic- and antiparkinsonian-like properties. **Neuropharmacology 51**:129-140.

Zhang Y, Yoshida T, Katz DB, Lisman JE (2012). NMDAR antagonist action in thalamus imposes delta oscillations on the hippocampus. **J Neurophysiol 107**:3181-3189.

Zhang ZJ, Reynolds GP (2002). A selective decrease in the relative density of parvalbumin-immunoreactive neurons in the hippocampus in schizophrenia. **Schizophr Res 55**:1-10.

Zuurman L, Ippel AE, Moin E, van Gerven JM (2009). Biomarkers for the effects of cannabis and THC in healthy volunteers. **Br J Clin Pharmacol 67**:5-21.